

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO "RUBÉN DARÍO"
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN
QUÍMICA FARMACÉUTICA



TÍTULO:

CUANTIFICACIÓN DE HIERRO TOTAL EN LAS HOJAS DE ESPINACA (*Basella alba*) POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA/VISIBLE, LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE ALIMENTOS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNAN-MANAGUA, ENERO-DICIEMBRE, 2015.

Autores:

Br. Yader Leónidas López Silva.

Br. Jader Cedex García Mercado.

Tutor:

Lic. Róger Antonio Jaime Manzanarez.

Asesor Metodológico:

MSc. María Natalia Gutiérrez Arias.

Managua, Junio del 2016.

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO I: ASPECTOS GENERALES	Pág.
1.1 Introducción.....	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general.	2
1.2.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Planteamiento del problema.....	3
1.4 Justificación.....	4
1.5 Antecedentes	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Generalidades de la espinaca.	8
2.1.1 Aspectos relevantes de la espinaca (<i>Basella alba</i>).	8
2.1.2 Calendario biológico de la espinaca <i>Basella alba</i>	9
2.1.3 Origen.....	9
2.1.4 Nombres Comunes de <i>Basella alba</i>	10
2.1.5 Características botánicas.	11
2.1.6 Descripción de la planta.	12
2.1.7 Necesidades para el desarrollo.	13
2.1.8 Aporte nutricional de la espinaca.	13
2.1.9 Uso medicinal.	14
2.1.10 Composición Química de la espinaca.	15
2.1.11 Farmacología <i>in vivo</i>	16
2.1.12 La espinaca como alimento funcional	16
2.2 Técnica Instrumental Utilizada: Espectrofotometría Ultravioleta /Visible.	17
2.2.1 Generalidades de la espectrofotometría.....	17
2.2.2. Principio Físico.	18
2.2.3 Espectrofotómetro UV-Visible.	19
2.2.4 Tipo de Espectrofotómetro.	20
2.2.5 Absorción de la Radiación.....	20

2.2.6 Ley de Lambert–Beer.....	21
2.3 Descripción General del método de análisis para la cuantificación de Hierro total.....	22
2.3.1 Principio.....	22
2.3.2 Interferencias.....	24
CAPITULO III: HIPÓTESIS.....	25

CAPITULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio.....	28
4.2 Descripción del ámbito de estudio.....	28
4.3 Población y Muestra.....	28
4.3.2 Protocolo de muestreo.....	31
4.3.2.1 Tamaño de la muestra.....	31
4.3.2.2 Selección de la muestra.....	31
4.3.2.3 Procedimiento de Muestreo <i>in situ</i>	33
4.3.2.4 Almacenamiento y transporte de la muestra al Laboratorio.....	34
4.4 Variables.....	34
4.4.1 Variable independiente.....	34
4.4.2 Variable dependiente.....	34
4.5 Operacionalización de variables.....	35
4.6 Materiales y Método.....	35
4.6.1 Materiales para recolectar información.....	35
4.6.2 Materiales para procesar información.....	36
4.6.3 Metodología de Trabajo.....	38
4.6.3.1 Procedimiento de lavado (material de vidrio, porcelana y plástico) para el análisis.....	39
4.6.3.2. Preparación de las Soluciones.....	40
4.6.3.3. Comprobación de la Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.....	41
4.6.3.4 Preparación de la curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro.....	43
4.6.3.5 Pre-tratamiento de la muestra.....	45

4.6.3.5.1. Preparación de las muestras para su posterior proceso de secado.	45
4.6.3.6. Método de secado en estufa de convección hasta alcanzar peso constante.....	45
4.6.3.6.1 Principio.....	45
4.6.3.6.2 Determinación de humedad relativa y residuo seco en las hojas de espinaca.....	45
4.6.3.7. Homogenización de la muestra para su posterior análisis (<i>Basella alba</i>). 47	
4.6.3.8. Homogenización de la muestra control.	47
4.6.3.9. Digestión Seca.	47
4.6.3.10. Preparación de la solución ácida digerida de las cenizas.	50
4.6.3.11. Determinación de Hierro Total por el método colorimétrico de la orto-fenantrolina en las soluciones ácidas digeridas de las cenizas de las muestras de análisis, muestras control y blancos de análisis.	50
4.7. Técnica de obtención de información.....	53

CAPITULO V: ORGANIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5. ORGANIZACIÓN DE LOS RESULTADOS.	55
5.1 Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.....	55
5.2 Determinación de humedad y residuo seco en las hojas <i>B. alba</i> , muestras control y blancos de análisis para los tres lotes.	57
5.3 Determinación de las cenizas totales en las muestras <i>B. alba</i> , muestras control y blancos de análisis para los tres lotes.	62
5.5 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras <i>B. alba</i> , muestras controles y blancos de análisis del primer lote por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.	70
5.6 Segunda Curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro para la cuantificación del segundo lote de espinaca (Catarina 12 muestras).	72
5.7 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras <i>B. alba</i> , muestras controles y blancos de análisis del segundo lote a partir de la curva de calibración de estándares externos conocidos de hierro.....	74
5.8 Tercer Curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro para la cuantificación del tercer lote de espinaca (Catarina 16 muestras).	75

5.9 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras <i>B. alba</i> , muestras controles y blancos de análisis para el tercer lote por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.	77
5.10. Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para consumir la cantidad específica de hierro en aquellas personas que presentan anemia ferropénica.....	78
5.10.1 Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para los habitantes que presentan anemia ferropénica del municipio de San Juan de Oriente.	79
5.10.2. Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para los habitantes que presentan anemia ferropénica del municipio de Catarina.....	82
5.11 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	84
5.11.1 Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.....	84
5.11.2 Determinación de humedad y residuo seco en las hojas <i>B. alba</i> , muestras control y blancos de análisis.....	85
5.11.3 Determinación de las cenizas totales en las hojas <i>B. alba</i> , muestras control y blancos de análisis.	87
5.11.4. Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras <i>B. alba</i> , muestras controles y blancos de análisis por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.	88
5.11.5 Valoración de la masa bruta de espinaca en peso seco como alimento funcional para consumir la cantidad específica de hierro en aquellas personas que presentan anemia ferropénica.....	90

CAPITULO VI: CONCLUSIONES

CAPITULO VII: RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXO

LISTA DE ANEXO

		Pág.
Anexo N° 1	Lote de Espinaca (<i>Basella alba</i>) N° 1 del municipio de San Juan de Oriente.	1
Anexo N° 2	Lote de Espinaca (<i>Basella alba</i>) N° 2 del municipio de Catarina.	2
Anexo N° 3	Lote de Espinaca (<i>Basella alba</i>) N° 3 del municipio de Catarina.	3
Anexo N° 4	Monitoreo de la producción de hojas de espinaca (<i>Basella alba</i>).	4
Anexo N° 5	Cálculo para determinar el tamaño de la muestra en cada uno de los lotes.	5
Anexo N° 6	El algoritmo de Euclides para dividir un rectángulo en varios cuadrados.	7
Anexo N° 7	Cálculo del número de cuadrantes aplicando el algoritmo de Euclides a los tres lotes de espinacas.	10
Anexo N° 8	Hoja de muestreo utilizada en cada lote.	14
Anexo N° 9	Ejemplo de llenado de la hoja de muestreo.	15
Anexo N° 10	Etiqueta para el almacenamiento de las hojas de espinaca (<i>Basella alba</i>) <i>in situ</i> .	16
Anexo N° 11	Procedimiento de muestreo <i>in situ</i> .	17
Anexo N° 12	Almacenamiento de la muestra.	18
Anexo N° 13	Cálculo de la metodología experimental según la sección 4.3.2.2.	19
Anexo N° 14	Ensayo preliminar en la selección de la longitud de onda de máxima absorbancia en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda por medio de la metodología según la sección 4.6.3.3.	22
Anexo N° 15	Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.3.	23
Anexo N° 16	Ilustración de la fase experimental según la sección 4.6.3.4.	24

Anexo N° 17	Ilustración de la preparación de muestra de análisis.	25
Anexo N° 18	Ilustración del proceso de secado de las muestras (<i>Basella alba</i>).	26
Anexo N° 19	Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.7	27
Anexo N° 20	Muestra Control tratada igual que las muestras de análisis.	28
Anexo N° 21	Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.8.	30
Anexo N° 22	Ilustración de la fase experimental según la sección 4.6.3.9.	31
Anexo N° 23	Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.10.	32
Anexo N° 24	Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.11.	33
Anexo N° 25	Encuesta acerca de la planta de espinaca.	34
Anexo N° 26	Mapa de Nicaragua donde se marcan los Departamentos encuestados.	35
Anexo N° 27	Ejemplo de llenado de la encuesta acerca de la planta de espinaca.	36
Anexo N° 28	Resultados de la encuesta acerca de la planta de espinaca.	37
Anexo N° 29	Tabla de t student para dos colas.	41
Anexo N° 30	Hoja de cálculo elaborada con el estadístico asociado en la regresión de la mejor curva de calibrado del Gráfico 5.4.1.	42
Anexo N° 31	Hoja de cálculo elaborada con el estadístico asociado en la regresión de la mejor curva de calibrado del Gráfico 5.6.1.	44
Anexo N° 32	Hoja de cálculo elaborada con el estadístico asociado en la regresión de la mejor curva de calibrado del Gráfico 5.8.1.	46
Anexo N° 33	Cálculo manual con los estadísticos asociados en la regresión de la mejor curva de calibrado en cada uno de los tres Gráficos 5.4.1, 5.6.1 y 5.8.1.	48

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema4.1 Representación Esquemática de la metodología experimental en la elaboración de pH vs Absorbancia.	42
Esquema4.2 Representación Esquemática de la metodología experimental en la elaboración de la curva de calibrado.	44

LISTA DE FIGURA

	Pág.
Figura 2.1 Morfología de <i>Basella alba</i> .	11
Figura 2.2 a) Figura esquemática mostrando la atenuación de la radiación al atravesar una muestra. b) figura esquemática mostrando como se define P_0 como el poder radiante transmitido por el blanco.	19
Figura 2.3 Espectrofotómetro Lambda EZ201.	20
Figura 2.4 Estructura geométrica molecular de la ferroína.	23
Figura 4.1 Mapa de San Juan de Oriente donde se marca el punto de muestreo	29
Figura 4.2 Mapa de Catarina donde se marca el punto de muestreo	29
Figura 4.3 Mapa de Catarina donde se marca el punto de muestreo	30

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 5.1 Dependencia de la absorbancia del complejo ferroína en función del pH.	56
Gráfico 5.4.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza a I (95%) Lote N° 1	69
Gráfico 5.6.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza a I (95%) Lote N° 2	73
Gráfico 5.8.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza a I (95%) Lote N° 3	76
Gráfico 5.11.1 Comparación de la [Fe] reportada por la TCA con la [Fe] de las muestras de los tres lotes.	89

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2.1	Período de recolección de las hojas y siembra de espinaca 9
Tabla 2.2	Nombres comunes de <i>Basella alba</i> . 10
Tabla 2.3	Principales Nutrientes de la espinaca (<i>Basella alba</i>). 15
Tabla 4.1	Producción de las hojas de espinaca 30
Tabla 4.2	Tamaño de las muestras para cada lote de espinaca 31
Tabla 4.3	División de los lotes rectangulares en cuadrantes 32
Tabla 4.4	Masa a tomar de los cuadrantes en cada lote de espinaca 32
Tabla 4.5	Volumen de las alícuotas a medir para la preparación de la curva de calibrado 35
Tabla 5.1	Influencia del pH en la absorbancia del complejo ferroína. 55
Tabla 5.2.1	Determinación de Humedad y Residuo seco en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos (30 muestras). 57
Tabla 5.2.2	Determinación de Humedad y Residuo seco en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos (12 muestras). 59
Tabla 5.2.3	Determinación de Humedad y Residuo seco en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos (16 muestras). 61
Tabla 5.3.1	Determinación de Cenizas Totales en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos de análisis (30 muestras). 62
Tabla 5.3.2	Determinación de Cenizas Totales en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos de análisis (12 muestras). 65
Tabla 5.3.3	Determinación de Cenizas Totales en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blancos de análisis (16 muestras). 66
Tabla 5.4.1	Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda para 30 muestras. 68
Tabla 5.5.1	Determinación de la [Fe] total en las muestras <i>B.alba</i> , muestras controles y blanco de análisis en el lote N ^o .1 (30muestras). 70
Tabla 5.6.1	Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 72

	0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda para 12 muestras.	
Tabla 5.7.1	Determinación de la [Fe] total en las muestras <i>B.alba</i> , muestras controles y blanco de análisis en el lote N ^o .2 (12 muestras).	74
Tabla 5.8.1	Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda para 16 muestras.	75
Tabla 5.9.1	Determinación de la [Fe] total en las muestras <i>B.alba</i> , controles y blanco de análisis en el lote N ^o .3 (16 muestras).	77
Tabla 5.10.1	Variación de la masa de espinaca fresca aplicando los factores de corrección: a) liberación de hierro ($\times 2.44$) y b) fracción comestible ($\times 1.333$), San Juan de Oriente	81
Tabla 5.10.2	Variación de la masa de espinaca fresca aplicando los factores de corrección: a) liberación de hierro($\times 2.44$) y b) fracción comestible ($\times 1.333$), Catarina	83
Tabla 5.11.1	Comparación del porcentaje de humedad de las muestras controles con un valor de Referencia.	85
Tabla 5.11.2	Comparación del porcentaje de humedad para las muestras de análisis.	86
Tabla 5.11.3	Porcentaje de CV calculados en los tres lotes.	87
Tabla 5.11.4	Porcentaje de recobro en las muestras controles.	88
Tabla 5.11.5	Resultado promedio de la concentración final para cada lote.	89

DEDICATORIA

Este trabajo monográfico en primer lugar va dedicado a Dios porque es el ser supremo que nos ha permitido culminar esta gran meta, cuantas veces caímos él nos levantó dándonos las fuerzas para seguir siempre con la frente en alto hacia adelante. En segundo lugar este logro se lo dedicamos a nuestros padres que aportaron todo su apoyo económico y sentimental para poder nosotros cumplir nuestra meta de ser profesionales.

AGRADECIMINETO

Le agradecemos a Dios por brindarnos salud a nosotros y a nuestras familias, por darnos sabiduría, paciencia y sobre todo Fe.

A todas nuestras familias por darnos su apoyo incondicional y a todas las personas que de una u otra manera nos ayudaron a culminar esta gran meta.

A todos los profesores que formaron parte de nuestra formación universitaria por transmitir todo su conocimiento.

A la directora del departamento de Química MSc. Rosa María González Tapia, por todas aquellas gestiones que se realizó durante la realización de la investigación.

A la directora del Laboratorio de Biotecnología Ph.D. Martha Lacayo Romero por facilitar el agua destilada ocupada en toda la parte experimental de la investigación y por facilitar alguna instrumentación la cual se carecía en el Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos.

A la profesora MSc. María Natalia Gutiérrez Arias por su colaboración en la parte metodológica de la investigación.

Al Lic. Róger Antonio Jaime Manzanarez, por brindarnos toda su ayuda en el desarrollo de esta investigación.

Yader Leónidas López Silva & Jader Cedex García Mercado.

OPINIÓN DEL TUTOR

La presente Monografía titulada “Cuantificación de Hierro Total en las hojas *Basella alba* por Espectrofotometría Ultravioleta/Visible, Laboratorio de Análisis Físico-Químico de Alimentos Departamento de Química, UNAN-Managua, Enero-Diciembre, 2015”, ha sido realizada por los Bachilleres Yader Leónidas López Silva (N° carné 09-04315-3) & Jader Cedex García Mercado (N° carné 09-04139-3) bajo la dirección del **Lic. Róger Antonio Jaime Manzanarez** y la asesoría metodológica de la **M.Sc. María Natalia Gutiérrez A.**

Ambos damos fe de que los Bachilleres han cumplido con todas las disposiciones y requisitos académicos según el *Capítulo III* del *Título IV* del **Reglamento del Régimen Académico Estudiantil**, aprobado por el Consejo Universitario en sesión No. 24 del 21 de Junio de 1994 y el **Instrumento de Evaluación para Modalidades de Graduación del Departamento de Química** en cuanto a la elaboración de la presente Monografía para optar al título de *Licenciado en Química Farmacéutica*.

Managua, 16 de Mayo del 2016.

Lic. Róger Antonio Jaime Manzanarez
Profesor Titular Universitario
Departamento de Química
UNAN–Managua

M.Sc. María Natalia Gutiérrez Arias
Profesora Titular Universitaria
Departamento de Química
UNAN–Managua

UNAN–Managua
Departamento de Química
Telf.: 00(505) – 2278 6769
Extensión: 5155

RESUMEN



Palabras claves: *Anemia Ferropénica, Hierro Total, curva de calibrado, espectrofotometría Ultravioleta/Visible, Cenizas Totales.*

La presente investigación se realiza en el Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos del Departamento de Química de la UNAN-Managua por la técnica de espectrofotometría Ultravioleta/Visible utilizando el método colorimétrico de la orto-fenantrolina, para determinar la concentración de hierro total presente en las hojas de espinaca (*Basella alba*). La cuantificación se realiza a tres lotes de espinaca provenientes de los municipios de San Juan de Oriente (lote-MTSJ) y Catarina (lote-MCTR₁, MCTR₂) obteniendo un total de 58 muestras, en cada lote se obtiene un residuo seco aplicando el método de secado en estufa de convección hasta peso constante, luego se obtienen las cenizas totales por medio de combustión seca a una temperatura de 550 °C y posteriormente se digestan con ácido clorhídrico concentrado. Para cada lote de espinaca se realiza una curva de calibración para determinar la concentración de hierro total en las muestras de análisis. En el primer lote la concentración promedio es de **3.20 mg Fe/100 g** de espinaca, en el segundo lote se obtiene una media de **1.97 mg Fe/100 g** de espinaca y para el tercero **2.92 mg Fe/100 g** de espinaca. Se estima la masa bruta de espinaca en peso seco como alimento funcional para la población que padezca anemia ferropénica en el municipio de San Juan de Oriente para adultos se obtienen **0.44 kg** de peso seco una vez al día, embarazadas de **0.88 kg** de peso seco una vez al día y para la población de Catarina en adultos es de **0.53 kg** de peso seco una vez al día y embarazadas **1.06 kg** de peso seco una vez al día.

CAPÍTULO I



ASPECTOS GENERALES

1.1 INTRODUCCIÓN

El hierro es un nutriente esencial porque es parte central de la hemoglobina que transporta el oxígeno a todas las células del cuerpo. También sirve para activar el grupo de vitaminas B, estimula la inmunidad y la resistencia física. La deficiencia de hierro es la causa de muchas enfermedades siendo la más común la anemia ferropénica.

La población Nicaragüense se ve afectada por la anemia ferropénica, el grupo etario más afectado son embarazadas y adultos. Para contrarrestar dicha patología la población utiliza tradicionalmente las hojas de espinaca como medicina natural, sin embargo ésta desconoce la ingesta diaria de espinaca para combatir el déficit de hierro en el organismo.

Por lo antes mencionado al conocer la cantidad exacta de hierro total por gramo de hojas de espinaca se podrá establecer por medio de una estimación la ingesta diaria de masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional la cual contendrá la cantidad específica de hierro para aquellas personas afectadas por dicha patología.

El presente estudio tiene como finalidad, determinar la cantidad de hierro total en las hojas de espinaca (*Basella alba*) por Espectrofotometría Ultravioleta/Visible utilizando para ello el método colorimétrico de la orto-fenantrolina, previa eliminación del contenido de humedad y calcinación por digestión seca de las hojas y posterior disolución de los minerales totales con ácido clorhídrico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General.

- ✍ Cuantificar la concentración de hierro total en las hojas de (*Basella alba*), por Espectrofotometría Ultravioleta/Visible (Método colorimétrico orto-fenantrolina) Laboratorio de Análisis Físico-Químico de Alimentos Departamento de Química, UNAN-Managua, Enero-Diciembre, 2015.

1.2.2 Objetivos Específicos.

1. Interpretar la información obtenida por medio de encuestas acerca de las diferentes formas de preparar las hojas de espinaca (*Basella alba*) que la población Nicaragüense emplea con fines terapéuticos para definir la matriz de estudio.
2. Aplicar el método de secado en estufa de convección hasta peso constante, empleando posteriormente el método de pretratamiento por combustión seca al residuo seco para obtener las cenizas totales de las hojas *Basella alba*.
3. Determinar la concentración de hierro total en las hojas *Basella alba*, utilizando el método colorimétrico de la orto-fenantrolina el cual obedece a la ley de Lambert y Beer.
4. Valorar la cantidad de espinaca bruta en base seca como alimento funcional para las personas adultas que padezcan anemia ferropénica con tratamiento farmacológico.

1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La anemia ferropénica se observa en todos los países y en todos los estratos sociales. Se ha calculado que afecta a uno de cada 3 habitantes. Afecta a ambos sexos y a todas las edades, pero su prevalencia es mayor en lactantes y adolescentes, mujeres en edad fértil, embarazadas y ancianos. Se define como el descenso de hemoglobina seguido de una disminución de la concentración de hierro en el organismo cuando los valores son menores a 13-16 Hb (g/dl) en hombres adultos y 12-14 Hb (g/dl) en mujeres **(Espinoza, 2003)**.

La población Nicaragüense utiliza tradicionalmente las hojas de espinaca como medicina natural para contrarrestar dicha patología, a pesar que hay estudios que indican que el consumo de espinaca aumenta el recuento de hematocrito en la sangre, en el país se desconoce el consumo de espinaca que debe administrarse en personas que padezcan anemia ferropénica

Diversos estudios han demostrado la composición química del extracto de la hoja en las que se destacan las proteínas, vitamina A, vitamina C, vitamina E, vitamina K, vitamina B₉, riboflavina, niacina, tiamina y minerales como el calcio, magnesio y hierro **(Shruthi et al., 2012)**.

Al respecto conviene decir que este trabajo investigativo se basa en la determinación de hierro total en mg por gramo de espinaca para establecer por medio de una estimación la masa bruta de espinaca en peso seco como alimento funcional que una persona con anemia ferropénica deberá consumir, contribuyendo así a la disminución de este problema que afecta a la población Nicaragüense.

1.4 JUSTIFICACIÓN

La población Nicaragüense se ve afectada por la anemia ferropénica en la cual el grupo etario más afectado son embarazadas y adultos. Dicha enfermedad es contrarrestada por la ingesta de medicamentos como tabletas y jarabes con sales de hierro.

Sin embargo, cierta parte de la población utiliza las hojas de espinaca en diferentes preparados alimenticios con un propósito medicinal para tratar dicha patología, cabe destacar que ésta desconoce la ingesta diaria de espinaca para combatir el déficit de hierro en el organismo. En Nicaragua se desconoce la masa de hierro total por gramo de hojas de espinaca por lo que hasta ahora no se ha establecido la estimación adecuada para contrarrestar la anemia ferropénica.

Por lo antes mencionado al conocer la cantidad exacta de hierro total en mg por gramo de hojas de espinaca se puede establecer por medio de una estimación la masa bruta de espinaca en peso seco que deben ingerir las personas afectadas por dicha patología. Este trabajo investigativo beneficiará directamente a la población nicaragüense ya que contarán con una referencia científica que les indique cual es la cantidad de hierro total por gramo de hojas de espinaca.

Al respecto conviene decir que la finalidad de esta investigación científica es la determinación del contenido de hierro total presente en las hojas de *Basella alba* por espectrofotometría ultravioleta/visible utilizando para ello el método colorimétrico de la orto-fenantrolina en el Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos del Departamento de Química, UNAN-Managua, Enero-Diciembre, 2015.

1.5 ANTECEDENTES

Se realiza una revisión bibliográfica de los estudios sobre la concentración de hierro total, las propiedades terapéuticas y nutritivas de las hojas de espinaca (*Basella alba*). A nivel nacional no hay estudios que demuestren la concentración de hierro total en hojas de espinaca.

En el año 2002, Jane E. Varey & Denise J. Crispin (Escuela de Ciencia y Tecnología), Universidad de Teesside, realizaron un estudio titulado “Liberación del hierro de la espinaca: efectos de tratamiento sobre los niveles de hierro (II) y hierro (III) liberados *in vitro*”.

En la presencia de HCl (0.01M) y sin pepsina el porcentaje liberado fue de 22 % para la espinaca fresca. El efecto de la pepsina sobre la tasa de liberación también fue investigado con una máxima liberación después de cuatro hora de 26 % cuando la pepsina estuvo presente a 0.06 % y 41 % de liberación cuando la pepsina estuvo a 0.19 %

En el año 2009, A. T. Aborisade & O.O. Oladele (Departamento de Biología de la Universidad Federal de Tecnología Akure, Nigeria) realizaron una investigación titulada “Influencia de Diferentes Métodos de Secado y Almacenamiento sobre la Calidad de la Espinaca India”. En la culminación de este estudio obtuvieron el contenido de humedad (3.5-4%) por los tres diferentes métodos de secado.

Estos métodos fueron: al sol (35°C), a la sombra (28°C) y en el horno (45°C) y después de almacenarse en bolsas de polietileno en un periodo de 6 y 12 semanas, se observó que en el periodo de 12 semanas hubo una reducción del 1 % en todos los minerales incluyendo al hierro, lo que implica que las hojas de espinaca se pueden almacenar por más de doce semanas con una pérdida mínima del 1%.

En el 2010, Yamilé Jaramillo et al. (Corporación Universitaria Lasallista en Antioquia Colombia) realizaron un estudio sobre la cuantificación de hierro ferroso en espinaca y harina fortificada para la elaboración de galletas a nivel industrial de panificación para la comercialización. En el estudio se analizaron tres matrices: la espinaca, la harina de trigo no clorada y una masa clásica para galletas de realzado con y sin pulpa de espinaca en su formulación.

Con el fin de observar la posibilidad de una fortificación directa de hierro empleando la adición de una matriz vegetal como la espinaca en un producto terminado de panadería el estudio evidenció que hubo un aumento en la concentración de hierro en la masa fortificada con la pulpa de espinaca.

En el 2013, N. Chaturvedi et al. (Departamento de Ciencia de los Alimentos y Nutrición de la Universidad de Banasthal en Rajasthan India) desarrollaron un estudio titulado “Comparación Nutricional y Análisis Fitoquímico de Cultivos de Espinacas: *B. alba* y *S. oleracea*”.

En este trabajo *Basella alba* y *Spinacea oleracea* fueron analizadas para investigar los nutrientes básicos en la dieta con el fin de determinar su potencial nutricional. El resultado del estudio mostró en la prueba espectrofotométrica que las muestras revelaron un contenido de hierro en *B.alba* de 1.60 ± 0.37 mg/100 g y para *S. oleracea* fue de 0.29 ± 0.07 mg/100 g. Este estudio indica que la especie del cultivo *B. alba* contiene una alta concentración de hierro comparada con la *S. oleracea*.

CAPÍTULO II



MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades de la espinaca.

2.1.1 Aspectos relevantes de la espinaca (*Basella alba*).

Basella alba es el nombre botánico de esta especie perteneciente a la familia *Basellaceae* es conocida de forma común como: *espinaca blanca*, *espinaca china* y *espinaca malabar* sus hojas son nutritivas y sabrosas. Se cree que es nativa del suroeste asiático, y se introdujo en Europa en el siglo XII. Cuando la investigación nutricional descubrió que contiene hierro, vitamina A y vitamina B₂ o riboflavina cobró enorme popularidad en la década de 1920 (**Denton, 2004**).

Se cultivan variedades de espinaca entre las que destacan por su mayor consumo entre la población:

- a) *Spinacea oleracea*: de hoja rizada resistente y se comercializa congelada y enlatada.
- b) *Basella alba*: de hoja lisa es fácil de lavar y se comercializa fresca.

Las hojas de espinaca se recogen en su período de cosecha que es entre 55 y 70 días (Tabla 2.1, pág.9), la planta forma una enredadera que se separa del suelo. El calor y las temporadas de verano hacen que la planta se reproduzca en menos cantidades, la espinaca debe cultivarse durante enero a diciembre siendo los días más reproducibles los meses de invierno (**FAO, 2006**).

Las vitaminas A, C y el hierro son las que están presentes en este vegetal y el mejor modo de aprovechar estos nutrientes es comiendo las hojas crudas, en ensaladas por ejemplo, para que conserven mejor sus nutrientes (**Edmond, 2000**).

Existe una gran variedad de espinacas, todas ellas clasificadas por el tipo de hoja. No sólo son nutritivas y deliciosas, sino que también contribuyen a mejorar la salud: ayudan a hacer la digestión y alivian el estreñimiento gracias a la

Fibra. Además, disminuyen la presión arterial y otras bondades más (**Denton, 2004**).

2.1.2 Calendario biológico de la espinaca *Basella alba*.

Tabla 2.1 Período de Recolección de las hojas y siembra de espinaca.

Nombre Científico: <i>Basella alba</i>	Familia: <i>Basellaceae</i>
Nombre Común: <i>Espinaca Blanca</i>	
Período de cosecha:	Cosecha 55-70 días después de la siembra y continúa por 90-100 días.
Siembra:	Enero-Diciembre. Siembra directa o por esquejes. Abono orgánico .De secano o con riego por goteo.

Fuente: FAO, pág. 30, 2006.

2.1.3 Origen

Esta trepadora perenne original de Asia del Este (África) puede llegar a alcanzar nueve metros de altura, (***Basella alba***) cuenta con poca información fiable sobre sus flores, pero éstas son presumiblemente de color magenta con toques blanco dotadas de unidades reproductivas hermafroditas.

La espinaca fue introducida en Europa alrededor del año 1000 procedente de regiones asiáticas, probablemente de Persia, pero únicamente a partir del siglo XVIII comenzó a difundirse por Europa y se establecieron cultivos para su explotación, principalmente en Holanda, Inglaterra y Francia; se cultivó después en otros países y más tarde pasó a América (**Edmond, 2000**).

El botánico francés Pyramus de Candolle (1883), sostiene que esta planta procede de Oriente Medio, pues su nombre parece derivar del persa aspanach o

del árabe isfinag. La cultura árabe prestaba mucha atención a los aspectos medicinales de las plantas (**Edmond, 2000**).

La espinaca les proporcionaba un alimento fácilmente digerible, estimulante, beneficioso para el hígado y el páncreas, es por eso que los árabes la mencionan con frecuencia. Así, el escritor Ibn al Auwam, conocido como Abu Zakaria, en su Libro de Agricultura (siglo XII), nos dice que la espinaca es la reina de las hortalizas por sus usos y propiedades (**Edmond, 2000**).

Existe una gran variedad de espinaca todas ellas clasificadas por el tipo de hoja, entre las que se destacan por el consumo de la población son las especies *Basella alba* y *Spinacea oleracea*, pero en Nicaragua la especie de espinaca que se cultiva es *Basella alba* es por esta razón que la presente investigación se centra únicamente en el estudio de esta especie de espinaca.

2.1.4 Nombres Comunes de *Basella alba*.

Basella alba es conocida por diversos nombres procedentes de cada región en particular.

Tabla 2.2 Nombres comunes de *Basella alba*.

Países y ciudades de la India	Nombres comunes
Inglaterra:	Ceylon espinaca, espinaca Malabar, espinaca india,
Hindi:	lalbachlu, Poi
Konkani:	Valchibhaji
Tulu:	Basale
Marathi:	Mayalu
Cingalés	VelNiviti (Sudu)
India:	Poi

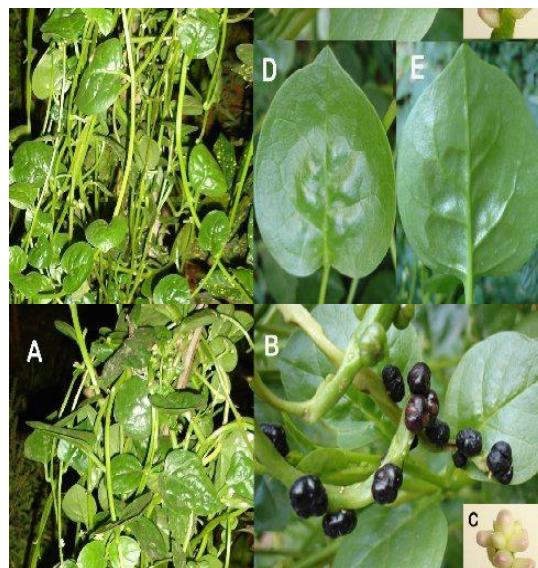
Fuente: Shruthi et al., 2012.

2.1.5 Características botánicas.

Espinaca Malabar (*Basella alba*)

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Caryophyllidae
Orden:	Caryophyllales
Familia:	Basellaceae
Género:	<i>Basella</i>
Especie:	<i>alba</i>
Hábitat:	Ambiente natural.

Figura 2.1: Morfología de *Basella alba*, (A) planta, (B) junto con las frutas, (C) brote, (D) adaxial y abaxial (E) superficies de la hoja.



Fuente: Shruthi et al., 2012.

La espinaca es una planta anual, cultivada como verdura por sus hojas comestibles, grandes y de color verde muy oscuro. Su cultivo se realiza durante todo el año y se puede consumir fresca, cocida o frita (**Denton, 2004**).

La planta en una primera fase forma una roseta de hojas de duración variable según condiciones climáticas y posteriormente emite el tallo. De las axilas de las hojas o directamente del cuello surgen tallitos laterales que dan lugar a ramificaciones secundarias, en las que pueden desarrollarse flores (**Denton, 2004**).

Es una planta diótica, o sea con flores masculinas y con flores femeninas en pies distintos. Las masculinas carecen de corola y tienen el cáliz dividido en cinco

partes; las femeninas lo tienen dividido en cuatro, también sin corola (**Denton, 2004**).

Los frutos tienen una sola semilla encerrada en el cáliz, por lo que podemos decir que existen plantas masculinas, femeninas e incluso hermafroditas, que se diferencian fácilmente, ya que las femeninas poseen mayor número de hojas basales, tardan más en desarrollar la semilla y por ello son más productivas (**Denton, 2004**).

Los frutos son carnosos y casi negros, que manchan de color morado fuerte. Se reproduce por medio de semillas, y si se desean guardar se deben sacar de la pulpa de los frutos, para ello se dejan tres días en agua, luego se restriegan para sacar la pulpa, se lavan bien y se ponen a secar. Su cultivo debe hacerse con una estructura que le permita trepar y desarrollarse adecuadamente (**Denton, 2004**).

2.1.6 Descripción de la planta.

Sistema radicular: Raíz pivotante, poco ramificada y de desarrollo radicular superficial. El tallo es carnoso y muy ramificado, alcanza 2 metros a más de longitud.

Hojas: Caulíferas, más o menos alternas y pecioladas, de forma y consistencia muy variables, en función de la variedad. Color verde oscuro. Pecíolo cóncavo y a menudo rojo en su base, con longitud variable, que va disminuyendo poco a poco a medida que soporta las hojas de más reciente formación y va desapareciendo en las hojas que se sitúan en la parte más alta del tallo.

Flores: Las flores masculinas, agrupadas en número de 6-12 en las espigas terminales o axilares presentan color verde y están formadas por un periantio con 4-5 pétalos y 4 estambres (**Denton, 2004**).

2.1.7 Necesidades para el desarrollo.

El desarrollo de la especie *Basella alba* se desarrolla mejor en suelos con pH ácido, neutro o alcalino. Su parte subterránea crecerá con vigor en soportes con textura arenosa, franca o arcillosa, éstos se pueden mantener generalmente húmedos. Con la información anterior deberemos adecuar el riego buscando mantener un nivel de humedad en el suelo constante teniendo en cuenta la textura de éste, exposición al sol, humedad ambiental, temperatura, etc. Un aspecto interesante a comentar es que no tolera los encharcamientos, por lo que la zona de plantación debe estar muy bien drenada.

En cuanto a sus necesidades lumínicas, podemos aseverar que es muy exigente, sólo puede situarse en un lugar con exposición directa al sol para no repercutir negativamente en su crecimiento de forma normal.

2.1.8 Aporte nutricional de la espinaca.

La naturaleza nos ha otorgado una gran variedad de alimentos que son no sólo ricos en sabor, sino que también tienen propiedad muy beneficiosa para la salud. En esta ocasión en la espinaca encontramos un elemento central de la hemoglobina que es el hierro y que también contiene un antioxidante por excelencia como lo es el β -caroteno (**Denton, 2004**).

En la dieta diaria está indicado el consumo de hortalizas y vegetales, entre ellas, la espinaca son de las más versátiles. Con un gran aporte de minerales y vitaminas, se incluyen en multitud de recetas. Sus hojas son muy ricas en fibras siendo por lo tanto muy bueno incorporarlas a nuestra alimentación (**Swanson, 2003**).

Minerales: Las espinacas cuentan con una cantidad de hierro considerable así como también de minerales como magnesio, potasio, sodio, calcio y fósforo.

Vitaminas: Es uno de los vegetales de mayor riqueza vitamínica, ya que es muy alto su contenido en vitaminas A, B y C, también presenta un elevado índice de caroteno (provitamina A) similar al de las zanahorias, teniendo asimismo un pequeño porcentaje de vitaminas E y K (**Swanson, 2003**).

Además de todo lo anterior, cabe resaltar que esta planta, es abundante en proteínas y aminoácidos entre los cuales se encuentran: Isoleucina, Cisteína, Metionina, Fenilalanina, Valina, Alanina entre otros (**Swanson, 2003**).

Esta hortaliza es muy aconsejable en la dieta de niños anémicos y es ideal para convalecientes, ancianos, embarazadas y personas con agotamiento físico, es un alimento excelente para quienes sufren estreñimiento. Además por su contenido de vitaminas tiene propiedades cicatrizantes, tonificantes y vigorizantes (**Denise, 2002**).

2.1.9 Uso medicinal.

Planta medicinal se define como cualquier sustancia con uno o más de sus órganos que contiene propiedades que se pueden utilizar para fines terapéuticos o que se pueden utilizar como precursores para la síntesis de diversos fármacos.

El consumo diario de *Basella alba* tiene un efecto positivo en todo el cuerpo almacena la vitamina A en los hombres, las hojas de *B. alba* se utiliza para el tratamiento de la hipertensión por nigerianos en Lagos y la malaria en la medicina popular camerunés. La planta se ha informado de ser anti fúngico, anticonvulsivo, analgésico, actividades anti-inflamatorias y androgénicas y para el tratamiento de la anemia (**Shruthi, 2012**).

La decocción de hojas ha sido utilizada por sus efectos laxantes suaves, el despulpado de las hojas han sido aplicadas a forúnculos y úlceras para acelerar la supuración, el jugo azucarado de las hojas es útil para las afecciones del refriado.

La preparación del jugo de las hojas mezclado con mantequilla es usado como cataplasma para aplicarlo como calmante y en refrigeración se aplica a las quemaduras (**Shruthi, 2012**).

La raíz y las hojas se han utilizado para la eliminación de dolores después del parto, dolores del estómago y aumenta la producción de leche materna. *Basella alba* se ha utilizado para el tratamiento de la anemia en las mujeres, en el resfriado (hoja con tallo) y las infecciones relacionadas con el frío. La maceración se toma por vía oral para la infertilidad, enfermedad inflamatoria pélvica, orquitis y peligro de aborto (**Shruthi, 2012**).

2.1.10 Composición Química de la espinaca.

Tabla 2.3 Composición Química en 100 g de porción comestible.

Nutrientes	Unidades	Valores 100 g
Agua	%	91.4
Energía	Kcal.	23
Proteína	g	2.86
Grasa Total	g	0.39
Carbohidratos	g	3.63
Fibra Dieta. Total	g	2.2
Ceniza	g	1.72
Calcio	mg	99
Fosforo	mg	49
Hierro	mg	2.71
Tiamina	mg	0.08
Riboflavina	mg	0.19
Niacina	mg	0.72
Vit. C	mg	28
Vit. A Equiv.Retinol	mg	469
Ác. Grasos mono-insat.	g	0.01
Ác. Grasos poli-insat	g	0.17
Ác. Grasos saturados	g	0.06
Potasio	mg	558
Sodio	mg	79
Zinc	mg	0.53
Magnesio	mg	79
Vit. B6	mg	0.19

Folato Equiv. FD	mcg	194
Fracción Comestible	%	0.75

Fuente: TCA-INCAP (Tabla de Composición de Alimentos-Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá segunda edición) ,2012 pág.35.

2.1.11 Farmacología *in vivo*.

Los efectos del extracto acuoso de las hojas de *Basella alba* en parámetros hematológicos y bioquímicos fueron estudiados en ratas albinas de cepas *Wistar*. Los resultados mostraron que *B. alba* aumentó significativamente el recuento de glóbulos rojos, glóbulos blancos de la sangre, el recuento de hematocrito, la concentración de hemoglobina y el recuento de plaquetas. En resumen, *B. alba* se puede utilizar para reducir la anemia y como alimento funcional en la dieta diaria para mantener una buena salud (**Shruthi SD, 2012**).

2.1.12 La espinaca como alimento funcional

Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria que además de aportar nutrientes poseen componentes bioactivos. Estos compuestos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud. (**Drago Serrano et al., 2006**).

Las hojas de espinaca que la población Nicaragüense consume en su dieta diaria posee varios componentes bioactivos tales como flavonoides, taninos y el hierro, este último es de gran interés debido a que la población la utilizan de forma tradicional para disminuir la anemia ferropénica. Lo cual indica que se puede incluir como alimento funcional en la dieta diaria de las personas. (**Drago Serrano et al., 2006**).

2.2 Técnica Instrumental Utilizada: Espectrofotometría Ultravioleta /Visible.

2.2.1 Generalidades de la espectrofotometría.

La medida de la emisión y de la absorción de la luz por parte de las sustancias se denomina espectrofotometría. Los términos de absorción y emisión tienen el mismo significado que el de su uso cotidiano: absorción significa tomar y emisión significa dar. Cuando se utiliza el término luz se refieren normalmente a la luz visible para nuestros ojos. Sin embargo, la luz visible es únicamente una pequeña parte del espectro electromagnético, que incluye las radiaciones de radio, microondas, infrarrojo, visible, ultravioleta, rayos x y rayos gamma **(Rubinson & Rubinson, 2001).**

La espectrofotometría UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 380 y 780 nm) por una molécula. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas **(Rubinson & Rubinson, 2001).**

La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto **(Rubinson & Rubinson, 2001).**

Debido a ello, la espectrofotometría UV-Visible se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados **(Rubinson & Rubinson, 2001).**

Se utiliza extensivamente en laboratorios de química y bioquímica para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo (**Willard et al., 1991**).

2.2.2. Principio Físico.

El principio de la espectrofotometría ultravioleta-visible involucra la absorción de radiación ultravioleta-visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor (**Willard et al., 1991**).

La luz visible o UV es absorbida por los electrones de valencia, éstos son promovidos a estados excitados (de energía mayor). Al absorber radiación electromagnética de una frecuencia correcta, ocurre una transición desde uno de estos orbitales a un orbital vacío (**Willard et al., 1991**).

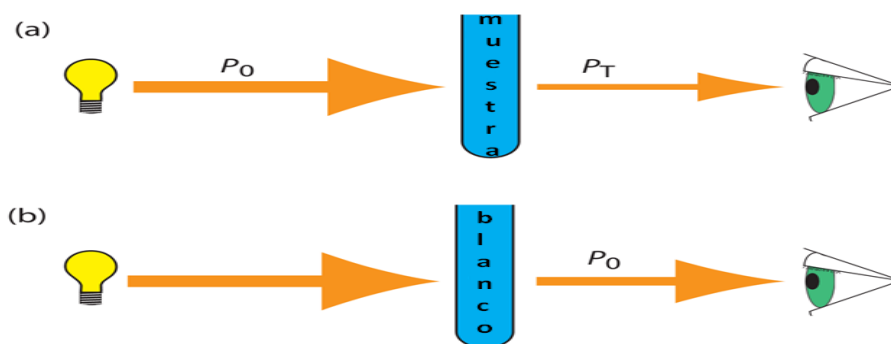
Las diferencias entre energías varían entre los diversos orbitales. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en la región visible así como en la UV (**Willard et al., 1991**).

Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una disolución conteniendo un analito absorbente, la intensidad incidente del haz (I_0) es atenuada hasta I . Esta fracción de radiación que no ha logrado atravesar la muestra es denominada transmitancia (T) $\left(T = \frac{I}{I_0}\right)$ (2.1)

Un método alternativo para expresar la atenuación de la radiación electromagnética es la absorbancia, A , la cual se define como

$$A = -\log T = \log P_0/P_r \quad (2.2)$$

Figura.2.2 (a) Figura esquemático mostrando la atenuación de radiación al atravesar una muestra; P_o es el poder radiante de la fuente y P_r es el poder radiante transmitido por la muestra. (b) Figura esquemático mostrando cómo se redefine P_o como el poder radiante transmitido por el blanco. Redefiniendo P_o de este modo se corrige la transmitancia en (a) por la pérdida de radiación debido a dispersión, reflexión, o absorción por el contenido de la muestra y la absorción por la matriz de la muestra.



Fuente: Tomado por Harvey, 2010, pág.562. Modificado por Jaime, 2012.

2.2.3 Espectrofotómetro UV-Visible.

Los instrumentos específicos utilizados para la espectrofotometría UV/Visible se denominan espectrofotómetros. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia (**Robinson & Robinson, 2001**).

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante. La absorción de las radiaciones UV/Visibles, depende de la estructura de las moléculas y es única para cada sustancia química (**Robinson & Robinson, 2001**).

2.2.4 Tipo de Espectrofotómetro.

Existen varios tipos de espectrofotómetros pero el utilizado en esta investigación fue el de doble haz (Figura 2.2) que cuenta con dos compartimentos para celdas de muestras que permite medir simultáneamente la cantidad de energía radiante absorbida por una matriz (blanco) y la energía absorbida por la muestra compuesta de la especie de interés (**Willard et al., 1991**).

Figura 2.3 Espectrofotómetro Lambda EZ201.



Fuente: Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos.

2.2.5 Absorción de la Radiación.

Cada especie molecular puede absorber sus propias frecuencias características de radiación electromagnética. Este proceso transfiere energía a la molécula y disminuye la intensidad de la radiación electromagnética incidente. Así pues, la absorción de la radiación atenúa el haz en concordancia con la ley de absorción o Lambert Beer (**Skoog et al., 2005**).

En espectroscopia, atenuar significa disminuir la energía por unidad de área de un haz de radiación. En términos del modelo fotónico, atenuar equivale a reducir el número de fotones por segundo del haz (**Skoog et al., 2005**).

2.2.6 Ley de Lambert–Beer.

En principio la Ley de Beer declara que la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución y que la cantidad de luz absorbida por un objeto depende de la distancia recorrida por la luz (**Skoog et al., 2005**).

La ley de Beer permite cuantificar la concentración de una muestra por UV, puede ser expresada de la siguiente manera:

$$A = \epsilon C l \quad (2.3)$$

Donde:

A : es la absorbancia.

ϵ : es el coeficiente de extinción (Característico de cada sustancia)

l : es el largo del paso de la celda (cm)

C : es la concentración (moles/L)

La absorción (o absorbancia) es igual a A , que es el logaritmo recíproco de la transmitancia y puede expresarse como:

$$A = \log 1/T, \text{ lo que es igual a: } A = -\log T \quad (2.4)$$

Cuando se expresa la concentración en la ecuación de la absorción con moles por litro y b en centímetros, la constante de proporcionalidad se llama absorptividad molar y recibe el símbolo especial ϵ y se puede expresar como:

$$A = \epsilon bc \quad (2.5)$$

Donde ϵ tiene las unidades $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

2.3 Descripción General del método de análisis para la cuantificación de Hierro total.

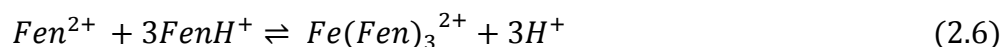
2.3.1 Principio.

La determinación de hierro total en los alimentos por lo general incluye la combustión total de la materia orgánica dejando sólo cenizas. Este proceso transforma todo el hierro presente a la forma elemental (Fe).

Una solución de cenizas se prepara utilizando ácido clorhídrico y luego se agrega una solución de clorhidrato de hidroxilamina y el hierro (III) se reduce a hierro (II). El ion ferroso (Fe^{2+}) se puede determinar espectrofotométricamente mediante la formación de complejos coloreados utilizando varios cromógenos que interactúan con éste, tales como el ligando 1,10-fenantrolina.

La reacción de color se tiene que realizar bajo pH controlado en condiciones adecuadas para el cromógeno. Con el fin de reducir la competencia por los iones hidronio (H_3O^+) se añade una solución de acetato de sodio 2 M para controlar las condiciones ideales del pH del ligando.

La 1-10-fenantrolina es una base débil, y en disolución ácida existe en forma protonada como ion fenantrolium (FenH^+). De este modo, la reacción de formación del complejo es descrita por la siguiente ecuación:



O bien

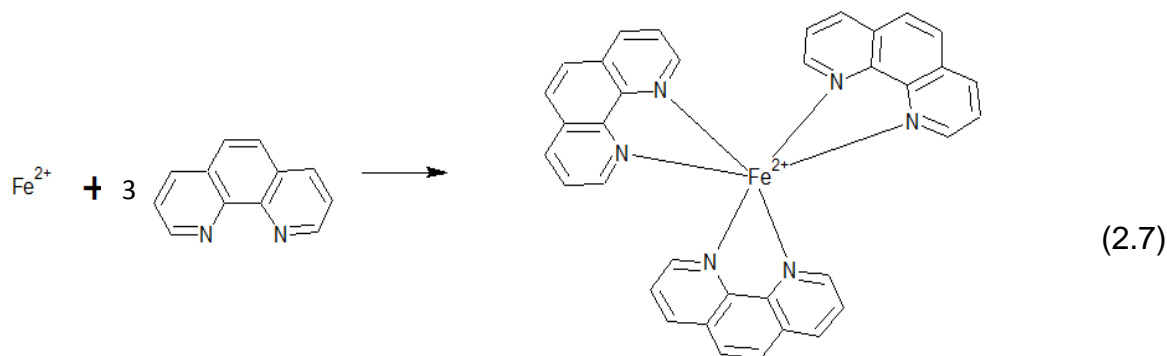
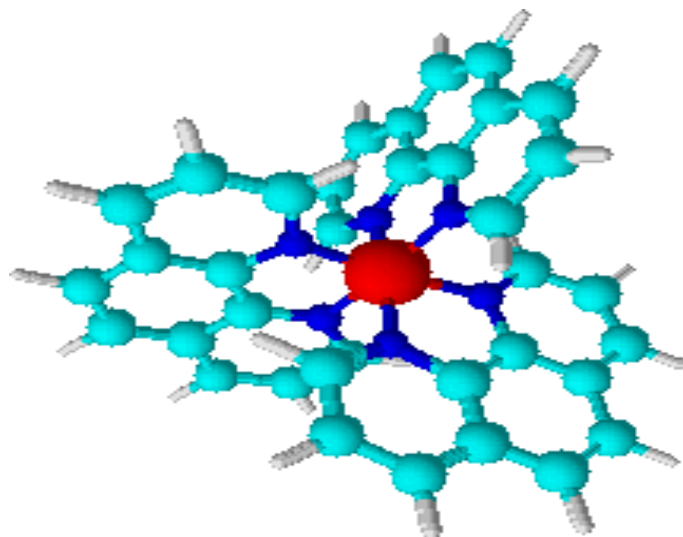


Figura 2.4. Estructura geométrica molecular de la ferroína.

El átomo central es el hierro (rojo) con una geometría molecular octaédrica enlazado con 6 átomos de Nitrógenos (Azul), 2 por cada molécula de 1,10-fenantrolina, los átomos de carbono se presentan en (verde-celeste) y los átomos de Hidrogeno en blanco.



Fuente: Estructurado en ChemSketch 10.0 y visualizado en 3D veiwer.

2.3.2 Interferencias.

Entre las sustancias que interfieren están los oxidante fuertes como: el cianuro, nitrito, y fosfatos (más los polifosfatos que el ortofosfato), cromo y zinc en concentración 10 veces superior a la del hierro, cobalto y cobre por encima de 5 mg/L y níquel por encima de 2mg/L. El bismuto, el cadmio, el mercurio, el molibdato y la plata precipitan la orto-fenantrolina **(APHA, AWWA, WEF, 1998)**.

La ebullición inicial con ácido convierte los polifosfatos en ortofosfatos y elimina el cianuro y el nitrito, que, por otra parte, podrían interferir. La adición de un exceso de hidroxilamina elimina los errores causados por concentraciones excesivas de reactivos fuertemente oxidantes. En la presencia de iones metálicos que interfieran, se utiliza un mayor exceso de fenantrolina para sustituir a la quelada por los metales que interfieren **(APHA, AWWA, WEF, 1998)**.

Si existen cantidades apreciables de materia colorante u orgánica, puede ser necesario evaporar la muestra, llevar el residuo a combustión seca y suave y volver a disolver en ácido. La combustión seca se puede realizar en crisoles de sílice, porcelana o platino que hayan sido hervidos durante varias horas en HCl 1+1. **(APHA, AWWA, WEF, 1998)**.

CAPÍTULO III



HIPÓTESIS

El método colorimétrico de la orto-fenantrolina es aplicable en la especie Basella alba para cuantificar el contenido de hierro total utilizando la técnica de espectrofotometría Ultravioleta/Visible.

CAPÍTULO IV



DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio.

Según Piura L. J (2008) este tipo de estudio puede clasificarse siguiendo el sentido del tiempo como un estudio longitudinal de carácter explicativo. También se considera como una investigación tradicional con tipo de diseño cuantitativo y según el nivel de conocimiento de los resultados es del tipo de investigación aplicada.

4.2 Descripción del ámbito de estudio.

El presente estudio de la cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca (*Basella alba*), provenientes de San Juan de Oriente y Catarina del Departamento de Masaya se realiza en el Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos del Departamento de Química, UNAN-Managua en el período comprendido de Enero a Diciembre del 2015.

Este trabajo investigativo se ubica en el área de estudio del análisis bromatológico, cuyo método analítico obedece al de la orto-fenantrolina utilizando la técnica de espectrofotometría ultravioleta/visible. Y según la metodología de la investigación se aplica el método hipotético deductivo.

4.3 Población y Muestra.

4.3.1 Población.

En este estudio se considera como población o universo a todas aquellas plantas de espinaca que estén listas para su análisis bajo las condiciones climáticas, naturales y eficientes de su hábitat, por el período de cosecha de las hojas entre 55 a 70 y continua por 90 a 100 días después de su siembra (**FAO, 2006**) las cuales se recolectan en la ciudad de Masaya en los municipios de San Juan de Oriente y Catarina.

Para establecer el marco de muestreo se seleccionaron tres lugares, uno en el municipio de San Juan de Oriente (Figura 4.1) y dos en el municipio de Catarina (Figura 4.2, 4.3) pertenecientes al Departamento de Masaya. Los cuales consisten en cultivos caseros de plantas de la especie *Basella alba*, Anexo N° 1, 2 y 3 respectivamente.

Figura 4.1 Mapa de San Juan de Oriente donde se marcó el punto muestreado.



Fuente: Google earth (versión 7.0)

Figura 4.2 Mapa de Catarina donde se marcó el punto muestreado.



Fuente: Google earth (versión 7.0)

Figura 4.3 Mapa de Catarina donde se marcó el punto muestreado.



Fuente: Google earth (versión 7.0)

A cada uno de estos cultivos se monitorea la producción de hojas de espinaca una vez a la semana por un periodo de un mes en medidas de libra (lb) (se elige esta unidad de medida porque así se comercializa). Los resultados promedios de la producción de hojas de espinaca se detallan en la Tabla 4.1. Para ver detalladamente el monitoreo de los tres cultivos puede referirse al Anexo N° 4.

Tabla 4.1 Producción de hojas de espinaca (*Basella alba*).

Lugar de muestreo	Número de lote	Producción
San Juan de Oriente	Lote N° 1	15 lb
Catarina	Lote N° 2	8 lb
Catarina	Lote N° 3	10 lb

Fuente: Equipo de trabajo.

4.3.2 Protocolo de muestreo.

4.3.2.1 Tamaño de la muestra.

Para calcular la muestra de una población conocida se utilizan los resultados del monitoreo de la producción de hojas (Tabla 4.1), obteniendo el tamaño de la muestra en cada lote de espinaca los cuales se detallan en la siguiente Tabla:

Tabla 4.2 Tamaño de la muestra para cada lote de espinaca.

Lugar de muestreo	Lote	Muestra
San Juan de Oriente	Lote N° 1	363.6292 g
Catarina	Lote N° 2	347.3836 g
Catarina	Lote N° 3	354.1660 g

Fuente: Equipo de trabajo.

Para apreciar los resultados de esta tabla puede referirse al Anexo N° 5.

4.3.2.2 Selección de la muestra.

Una vez que se toma las medidas de cada uno de los lotes a muestrear, éstos presentan formas geométricas rectangulares por lo tanto se aplica el algoritmo de Euclides que se utiliza para dividir un rectángulo en varios cuadrados, el fundamento de este algoritmo se detalla en el Anexo N° 6.

Los resultados al aplicar el algoritmo de Euclides a cada uno de los lotes de espinaca se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 4.3 División de los lotes rectangulares en cuadrantes.

Nº de lote	Nº de cuadrantes	Longitud del cuadrante
Lote Nº 1	30	30 cm
Lote Nº 2	12	25 cm
Lote Nº 3	16	18.75 cm

Fuente: Equipo de trabajo.

Para ver detalladamente la aplicación del algoritmo de Euclides a cada lote de espinaca puede referirse al Anexo N° 7.

Para establecer la masa que se ha de tomar de cada cuadrante en cada lote de espinaca se divide la muestra que se presenta en la Tabla 4.2 (pág. 34) entre el número de cuadrantes (Tabla 4.3) para cada lote respectivamente. La Tabla 4.4 muestra los resultados correspondientes.

Tabla 4.4 Masa a tomar de los cuadrante en cada lote de espinaca.

Nº de lote	Tamaño de la muestra	Nº de cuadrantes	Masa a tomar de cada cuadrante
Lote Nº 1	363.6292 g	30	12.1209 g
Lote Nº 2	347.3836 g	12	28.9516 g
Lote Nº 3	354.1660 g	16	22.1353 g

Fuente: Equipo de trabajo.

4.3.2.3 Procedimiento de Muestreo *in situ*.

Criterios de inclusión:

- ✎ Morfología ideal (color verde intenso, suavidad de las hojas, sin defectos ni picaduras de animales)
- ✎ Periodo de cosecha de las hojas entre 55 a 70 y continua por 90 a 100 días después de la siembra.
- ✎ Plantas sin frutos y hojas jóvenes-adultas.
- ✎ Remover el excedente de polvo sobre la superficie de la hoja.
- ✎ Plantas que ha sido tratadas con abono orgánico y riego continuo.

Criterios de exclusión:

- ✎ Morfología no ideal (hojas pálidas, hojas con plagas o picaduras de insectos)
- ✎ Periodo de cosecha de las hojas que no estén entre los días de recolección.
- ✎ Plantas con frutos, hojas marchitas.
- ✎ Plantas que han sido expuestas a climas extremos (humedad excesiva, sequías)
- ✎ Plantas que han sido expuestas a procesos químicos de fertilizantes, pesticidas y fungicidas.

Para la toma de la muestra *in situ* se utiliza tres especies de redes construidas con mecate y dos pilares de madera con sus debidas medidas para cada lote de muestreo con el número de cuadrantes calculados, además se utiliza la hoja de muestreo para cada lote de espinaca con sus respectivas especificaciones, (Anexo N°8) y en (Anexo N° 9) se muestra un ejemplo del llenado, posteriormente se detalla la etiqueta utilizada en cada cuadrante de los tres lotes (Anexo N° 10).

Se procede a cortar el peciolo de cada hoja separándolas del tallo, utilizando guantes estériles y tijera de acero, luego se procede a limpiar el polvo adherido a las hojas con una brocha de cerda blanca sin dejar residuos de éste, después se pesan con una balanza de mesa asegurándose tomar de cada cuadrante la cantidad estimada en la Tabla 4.4. (pág. 35). Este procedimiento se puede apreciar en el Anexo N° 11.

4.3.2.4 Almacenamiento y transporte de la muestra al Laboratorio.

Después del pesado de la muestra se procede a llenar las etiquetas con sus respectivas especificaciones y a colocarlas en la parte frontal de las bolsas de papel donde se procede a almacenarlas (Anexo N°12) para su conservación. Luego fueron transportadas al Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos (LAFQA) perteneciente al Departamento de Química de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua) para su posterior análisis.

Se almacenan las hojas de espinaca en bolsas de papel porque una vez separadas de la planta aún siguen respirando obedeciendo al protocolo de muestreo de plantas (*Spectrum Analytic Inc, 2009*).

4.4 Variables.

4.4.1 Variable independiente.

Concentración de hierro total.

4.4.2 Variable dependiente.

Absorbancia.

4.5 Operacionalización de variables.

TIPO DE VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	VALORES	UNIDAD DE MEDIDA
INDEPENDIENTE				
Concentración de Hierro total	La cantidad de hierro que se encuentra en la solución ácida digerida de la muestra de espinaca.	Absorbancia	0 – 1.60*	Masa/Masa mg de Hierro por cada 100g de hojas (mg/100g)
DEPENDIENTE				
Absorbancia	Cantidad de luz que absorbe una muestra en solución a una longitud de onda determinada.	Concentración molar de la sustancia (complejo ferroína)	0 - 1	Unidades de absorbancia

*Este valor es reportado por N. Chaturvedi et al.2013

4.6 Materiales y Método.

4.6.1 Materiales para recolectar información.

La información para la cuantificación de hierro total en las hojas de espinaca *Basella alba* se recolecta utilizando:

- ✎ Fichas de revistas científicas (Antecedentes)
- ✎ Encuestas (Anexos)
- ✎ Hoja de muestreo (Anexo)
- ✎ Ficha de registro de muestreo (Anexo)
- ✎ Curva de calibrado (Resultados)

4.6.2 Materiales para procesar información.

Los materiales o recursos estadísticos para procesar la información son los programas ChemSketch, Microsoft Office Excel, Microsoft Office Word y Minitab, obteniendo datos y pruebas estadísticas descriptivas, contrastes de significación, que arrojaron los resultados en forma de gráficos, tablas y diagramas donde se procesa toda la información requerida de manera sencilla y sistematizada.

Equipos

Nombre del equipo	Modelo	Compañía
Campana de gases	OR-ST 1200	Burdinola
Frigorífico Industrial	Stocklow G	J.P.Selecta
Balanza Analítica	Adventurer AR0640	Ohaus
Balanza Analítica	Adventurer Pro AV114	Ohaus
Plato caliente	PC-220	Corning
Estufa de convección	Conterm 2000210	J.P.Selecta
Desecador de vidrio	-----	SIMAX
pH-metro	GLP 21	Crison
Horno mufla	F62735	Thermolyne
Baño María	3000916	J.P.Selecta
Termómetro digital	DT-30A	A.W.Sperry Inc.
Espectrofotómetro Ultra Violeta/Visible	Lambda EZ201	Perkin Elmer
Impresora matricial	LX-300+	Epson
Cámara digital	SM-T111M	SAMSUNG
Mini-laptop	Aspire One ZE6	Acer Inc.
Memoria USB 4 GB		

Materiales

Nombre del material	Marca	Capacidad/Tamaño	Clase
Beakers	Pyrex®	50 mL	A
Beakers	SIMAX	50 mL	A
Agitadores de vidrio	---	18cm aprox.	----
Platos Petri	----	20cm aprox.	----
Espátulas Stainless	Fisher	10cm aprox.	----
Embudos de filtración	Pyrex®	8cm de diámetro aprox.	----
Pipetas de asistencia mecánica	RAININ	5 mL-500µL	---
Pipetas de asistencia mecánica	RAININ	1 mL-100µL	---
Matraces volumétricos	Pyrex®	50 mL	A/ ±0.05mL
Matraces volumétricos	Pyrex®	100 mL	A/ ±0.08mL
Matraces volumétricos	Pyrex®	200 mL	A/ ±0.10mL
Matraces volumétricos	Pyrex®	250 mL	A/ ±0.12mL
Matraces volumétricos	Pyrex®	500 mL	A/ ±0.20mL
Buretas	ALAMO	50 mL	A/ ±0.05mL
Pinzas para cápsulas	---	12cm aprox.	---
Pinzas para termómetros	---	5cm aprox.	---
Pinzas para embudos	---	20cm de diámetro	---
Cápsulas de porcelana	CoorsTek®	75mL/100mL	---
Crisoles de porcelana	CoorsTek®	20mL/30mL/50mL	---
Celdas para espectroscopía UV/Vis	Perkin Elmer	10 mm	---
Papel Filtro	Thomas	110 mm	---
Toallas Cleaner	Scott	----	----
Papel toalla	Scott	-----	----
Bolsas de papel craf	----	-----	---
Botellas de polietileno	Lacoplast	50mL	----
Guantes estériles	Caplin	L/M	-----

Reactivos

Nombre del Reactivo	Fórmula Química	Grado	Marca
Sulfato de amonio y hierro(II) hexahidratado	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	ACS; para análisis; estándar primario	Fisher
Acetato de sodio Anhidro	CH_3COONa	Enzimático	Fisher
Acetato de magnesio	$\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	ACS; para análisis	Fisher
1,10-fenantrolina monohidratada	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ACS; para análisis	Merck
Clorhidrato de Hidroxilamina	$\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$	Grado de síntesis	Scharlab S. L.
Ácido clorhídrico 36%	HCl	Suprapur [®] : para análisis de trazas(<0.2ppb Fe)	Fisher
Ácido acético glacial 100% Anhidro	CH_3COOH	ACS,ISO,Ph Eur; para análisis de metales	Merck
Ácido nítrico 65%	HNO_3	ACS; para análisis de metales(<0.1ppmFe)	Merck
Etanol $\geq 99.9\%$	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$	Grado analítico	Merck
Agua destilada	H_2O más impurezas	ASTM Tipo II	Laboratorio de Biotecnología
Extran MA-02	----	Neutro y libre de fosfatos	EMD Chemicals

4.6.3 Metodología de Trabajo.

El método de referencia que se emplea es el Método Oficial 944.02 Hierro en Harina de los Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC versión 17, 2002), equivalente al método oficial 40-41B

de los métodos de análisis aprobados de la Asociación de Químicos del Cereal (AACC versión 10 -2000).

Debido a la diferencia en la composición química de la matriz en estudio (hojas de espinacas) y la harina, se ajustan ciertas condiciones experimentales al ambiente del Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos y también se realizan ajustes al método debido a las limitaciones de cristalería clase A.

4.6.3.1 Procedimiento de lavado (material de vidrio, porcelana y plástico) para el análisis.

1. Se selecciona el material a utilizarse en el análisis.
2. Se enjuaga el material con suficiente agua del grifo y se lava con detergente neutro y libre de fosfatos Extran MA-02.
3. Se lava cada pieza con agua destilada.
4. Se introducen los materiales en una tina de plástico, la cual contiene 5 L de una solución de HNO_3 (10%) por 24 horas.
5. Se retira cada pieza de la tina de plástico utilizando gabacha manga larga, gafas, mascarilla y guantes, se enjuaga bien cada pieza tres veces con agua destilada.
6. Se lleva cada pieza a la estufa de convección a una temperatura de 40°C para los materiales de vidrio y a 30°C para las botellas de plástico para su respectivo secado.
7. Se deja enfriar la estufa de convección para retirar cada pieza de material y ubicarla en el estante respectivo, con su tapa o envuelta con papel aluminio; los vasos de precipitados se colocan en posición invertida. Las cápsulas y crisoles de porcelana se trasladan a un desecador hasta alcanzar la temperatura del laboratorio.

4.6.3.2. Preparación de las Soluciones.

En el Anexo N° 13 se detallan los cálculos de estas soluciones.

a. orto-fenantrolina 0.1%.

Se disuelve 0.1 g de o-fenantrolina en 80 mL de H₂O destilada a 80°C, dejar enfriar y diluir a 100 mL. Se guarda en un frasco de vidrio color ámbar bajo refrigeración. La solución es estable durante varias semanas. Desechar si la solución se vuelve ligeramente rosado, lo que indica que se ha contaminado con hierro.

b. Solución buffer de acetato de sodio/ácido acético, pH 4.3.

Se disuelve 20.75 g de acetato anhidro CH₃COONa (previamente secado a 100°C) en agua destilada, luego se agrega 30 mL de ácido acético glacial concentrado y se afora a 250 mL.

c. Clorhidrato de hidroxilamina - 10 % (m/v)

Se añade 10 g de clorhidrato de hidroxilamina en un vaso de precipitados, y se disuelve con agua destilada con la ayuda de una varilla de vidrio y se afora a 100 mL.

d. Soluciones estándar

d.1. Solución estándar de reserva de hierro, 500 ppm. Se pesa con exactitud 0.8777 g de sulfato ferroso amoniacal, Fe(NH₄)₂(SO₄)₂•6H₂O y se disuelve con agua destilada, se añade 2 gotas de HCl concentrado y se diluye a 250 mL (Esquema 4.1, pág. 42).

d.2. Solución estándar de trabajo de hierro 50 ppm. Se pipetea 20 mL de la solución estándar de reserva de hierro a 500 ppm y se afora a 200 mL (Esquema 4.1, pág. 42).

d.3. Solución estándar primaria de hierro - 1000 mg/L.

Se disuelve 3.5120 g de Fe (NH₄)₂(SO₄)₂•6H₂O con agua destilada, y se añade 2 gotas de HCl concentrado y se afora a 500 mL (Esquema 4.2, pág. 44).

d.4. Solución Estándar secundaria de hierro 10 mg/L.

En un matraz de 500 mL, se pipetea 5 mL de la solución patrón primario (1000 mg/L). También se añade 2 mL de HCl concentrado, luego se afora a 500 mL (Esquema 4.2, pág. 44).

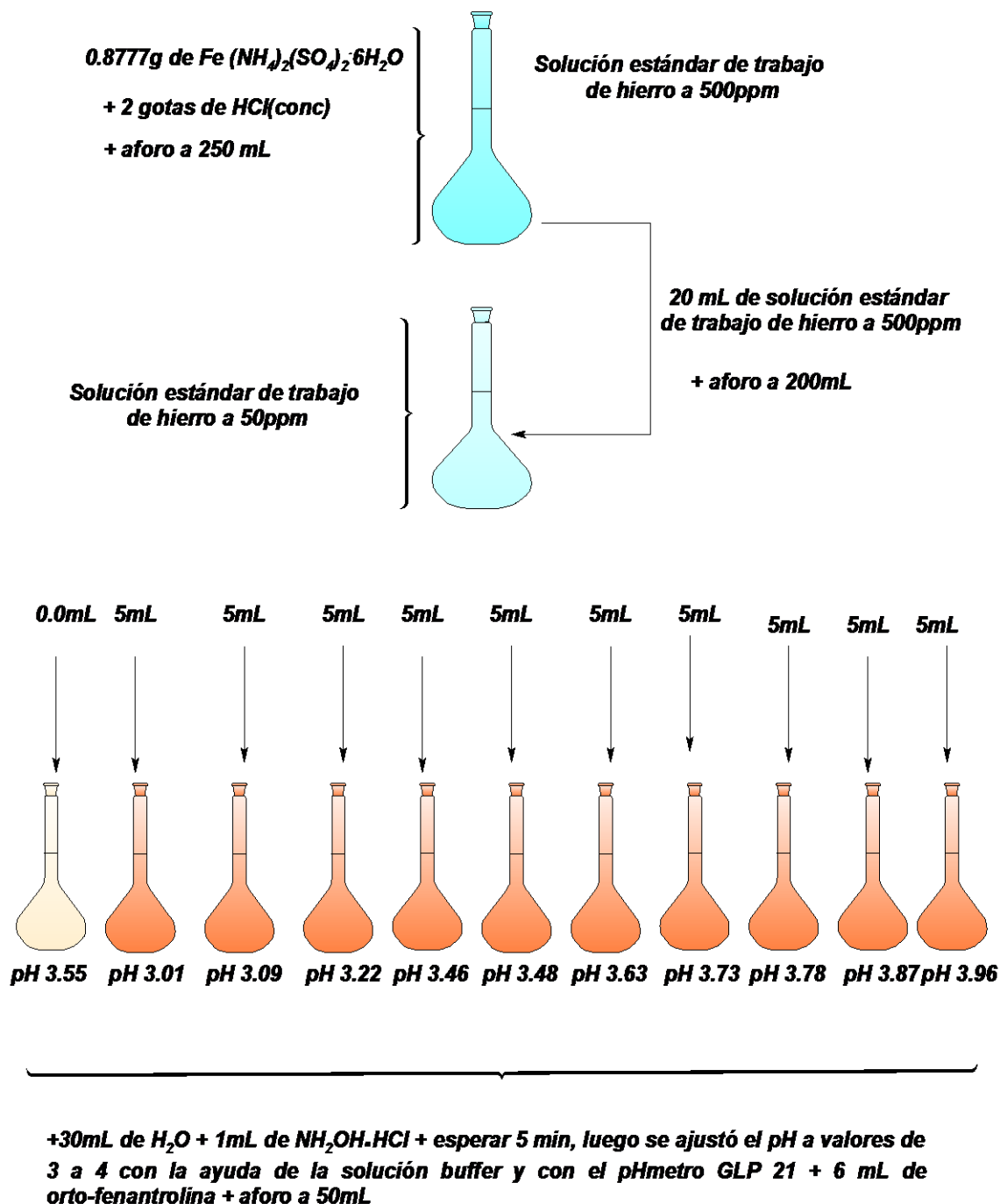
e. Solución coadyuvante de calcinación.

Se disuelven 3 g de $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en alcohol etílico al 95 % (v/v) y se afora en un matraz volumétrico clase A Pyrex de 200 mL.

4.6.3.3. Comprobación de la Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.

1. Se miden once alícuotas de 5 mL de solución estándar de trabajo de hierro a 50 ppm y se transfieren a beakers de 50 mL.
2. Se agrega a cada beakers 30 mL de agua destilada.
3. Se agrega a cada beakers 1 mL de la solución de clorhidrato de hidroxilamina al 10 %, (se espera 5 minutos).
4. Se ajusta el pH a valores dentro del intervalo 3-4 con la ayuda de la solución tampón y verificando con la ayuda del pHmetro GLP 21.
5. Se añade a cada beakers 6 mL de la solución orto-fenantrolina al 0.1% (**Jaime, 2013**).
6. Se prepara simultáneamente un blanco ajustado a un pH de 3.5.
7. Se trasvasa las soluciones a matraces volumétricos de 50 mL los cuales se aforaran con agua destilada, se agita y se deja reposar por 30 minutos.
8. Luego se pasa a medir la absorbancia de cada solución a una longitud de onda que se determina por medio de un ensayo previo (Anexo N° 14 y Anexo N° 15).

Esquema 4.1 Representación esquemática del procedimiento descrito en el acápite 4.6.3.3.



Fuente: Estructurado en ChemSketch versión 10.0.

4.6.3.4 Preparación de la curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro.

1. Se preparan ocho estándares de trabajo de hierro por duplicado, en el que se miden alícuotas de la solución estándar de trabajo de hierro a 10 ppm según la Tabla 4.5 y se transfirieren a matraces volumétricos clase A Pyrex de 100 mL.

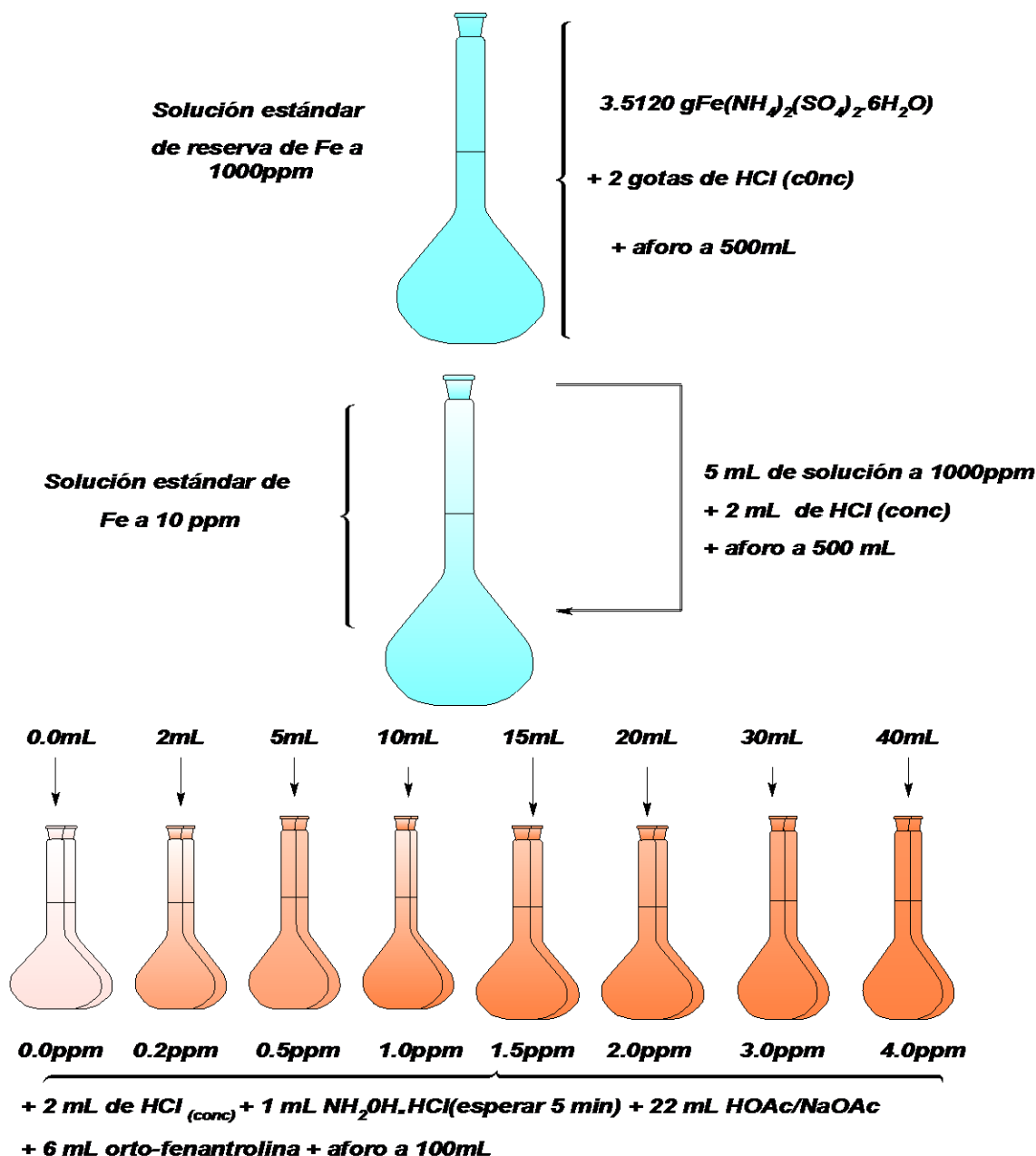
Tabla 4.5 Volumen de las Alícuotas a medir para la preparación de la curva de calibrado.

Concentración de Fe (ppm)	Alícuotas a tomar de la solución estándar de trabajo a 10 ppm (mL)
0.0	0.0
0.2	2.0
0.5	5.0
1.0	10.0
1.5	15.0
2.0	20.0
3.0	30.0
4.0	40.0

2. Se adiciona a cada uno de los matraces 2 mL de ácido clorhídrico concentrado, luego se añade 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina al 10%, se espera 5 minutos.
3. Se ajusta el pH de cada una de las soluciones a valores de 3.01 agregando 22 mL de la solución buffer de acetato de sodio/ácido acético glacial.
4. Finalmente se agrega a cada matraz 6 mL de solución orto-fenantrolina al 1%, se afora con agua destilada y se agita completamente (Este punto se realiza midiendo el tiempo de la adición de la orto-fenantrolina una vez que se afora cada matraz en intervalos de 1.50 min).

- Se procede a leer la absorbancia del estándar “cero” y de cada estándar de concentración conocida de hierro a una longitud de onda de 511 nanómetros, la primera lectura se realiza 3 minutos después de la formación del complejo de la orto-fenantrolina y así sucesivamente en intervalos de 1.50 minutos hasta completar 30 minutos desde la adición de la orto-fenantrolina (Anexo N° 16).

Esquema 4.2 Representación esquemática de la metodología experimental en la elaboración de la curva de calibrado.



4.6.3.5 Pre-tratamiento de la muestra.

4.6.3.5.1. Preparación de las muestras para su posterior proceso de secado.

Se elimina la masa falsa de cada hoja de espinaca utilizando un cuchillo de cocina de acero inoxidable, una tabla plástica para picar alimentos y guantes estériles, la parte de la hoja que se corta es el peciolo. Luego se procede a cortar todas las hojas de espinaca en trocitos para facilitar el procedimiento de pesado y secado. Este procedimiento se realiza en un ambiente cerrado a una temperatura aproximada de 20°C en el área de pesado del Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos Anexo N° 17, inmediatamente se procede a la fase experimental de la sección 4.6.3.6.2.

4.6.3.6. Método de secado en estufa de convección hasta alcanzar peso constante.

4.6.3.6.1 Principio.

Este método se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se sitúe a peso constante. El error de pesada en este método se minimiza cuando la muestra no se expone constantemente al ambiente (**Gorsuch, 1958**).

4.6.3.6.2 Determinación de humedad relativa y residuo seco en las hojas de espinaca.

1. Se enciende la estufa de convección y se programa a una temperatura de 80°C \pm 5 siguiendo los métodos de referencias de análisis de planta (**Kalra et al., 1998**). Se espera aproximadamente 30 minutos en que la estufa alcance la temperatura programada.
2. Se colocan las cápsulas de porcelana vacías en la estufa de convección por 60 minutos.

3. Se sacan y se colocan en un desecador hasta que alcancen la temperatura del laboratorio.
4. Luego se pesa en una balanza analítica Ohaus Adventurer Pro AV114.
5. Se repite el paso 2 y 3 hasta que las cápsulas alcancen peso constante.
6. Se pesa con aproximación de 1 mg alrededor de 15.00xx g de espinaca fresca en cada una de las cápsulas .
7. Se colocan las muestras en la estufa de convección durante 24 horas.
8. Se sacan las muestras de espinacas de la estufa y se colocan en un desecador hasta que alcanzan la temperatura del laboratorio.
9. Se procede a pesar las muestras secas en la balanza analítica Ohaus Adventurer Pro AV114 y se anota el peso.
10. Se colocan las muestras secas nuevamente en la estufa durante 1 hora y luego se colocan en un desecador hasta alcanzar la temperatura del laboratorio.
11. Se sacan las muestras del desecador y se procede a pesarlas.
12. Se repite el paso 10 y 11 hasta que las muestras alcancen un peso constante (Anexo N° 18, pág. 26).
13. Se realizan los cálculos respectivos del porcentaje de humedad relativa y residuo seco de forma manual mediante las siguientes ecuaciones:

$$\% H = \frac{M_1 - M_2 - \bar{H}_b}{M_1} \times 100\% \quad (4.3)$$

$$\% RS = \frac{M_2}{M_1} \times 100\% \quad (4.4)$$

% H: Porcentaje de humedad.

% Rs: Porcentaje de residuo seco.

M₁: Masa fresca (muestra control y muestra de análisis).

M₂: Masa de la cápsula con el residuo seco – masa vacía de la cápsula.

\bar{H}_b : Humedad promedio de los blancos de análisis.

4.6.3.7. Homogenización de la muestra para su posterior análisis (*Basella alba*).

Después que las muestras de *B. alba* pasan el procedimiento de secado se obtiene un residuo seco el cual se procede a homogenizar:

1. Para esta homogenización se utiliza un motero y un pilón de platino.
2. Con la ayuda de una espátula se traslada la muestra de la cápsula de porcelana al mortero.
3. Luego con la ayuda del pilón se procede a homogenizar la muestra, obteniendo un polvo fino (Anexo N° 19).

4.6.3.8. Homogenización de la muestra control.

1. Las muestras controles que se utilizan en este estudio son espinacas enlatadas **Leaf Spinach marca del Monte Ite: 233750** provenientes del Supermercado Abarca-Masaya (Anexo N° 20).
2. Para la muestra control se utiliza un homogenizador de alimentos Samic 20.
3. Luego se vierte la espinaca homogenizada a un frasco estéril previamente rotulado (Anexo N° 21).

4.6.3.9. Digestión Seca.

La determinación de elementos trazas en materiales orgánicos implican la destrucción preliminar de éstos por dos vías la calcinación y digestión húmeda, en la calcinación la oxidación se lleva a cabo por calentamiento de la muestra a altas temperaturas por lo general entre 400 y 700 °C, en digestiones húmedas, la temperatura en condiciones de líquidos es mucho más baja y se mantiene a lo largo de la oxidación, ésta se lleva a cabo por agentes oxidantes en solución.

En el estudio (**Gorsuch, 1958**) se analizaron minerales tales como el mercurio, zinc, selenio, arsénico, cadmio, antimonio, cromo, molibdeno, estroncio

y hierro en este último se estableció una temperatura de 550 °C y un tiempo de calcinación de cinco horas para la determinación de hierro en alimentos, dando como resultado recuperaciones entre 97 y 102 por ciento en vía húmeda y en vía seca 99 y 101 por ciento

En el laboratorio en el momento de realizar esta investigación no se disponía del equipo para la determinación de minerales por vía húmeda y tomando en consideración lo antes mencionado se decidió optar por la vía seca.

1. Se procede a rotular cada uno de los crisoles con sus respectivos códigos en la parte exterior de la base con lápiz de grafito.
2. Se colocan los crisoles vacíos en la estufa de convección a 110 °C por 60 minutos, luego se colocan en un desecador y se pesa cada crisol se repite este paso hasta que los crisoles alcanzan peso constante.
3. Se pesa el residuo seco de las muestras de espinaca *B. alba* previamente homogenizadas, directamente en los crisoles utilizando una balanza analítica Ohaus Adventurer Pro AV114 y se anota el peso.
4. Así mismo se pesa las muestras controles de espinaca enlatada previamente homogenizada por cuadruplicado y duplicado se incluyeron blancos de análisis por duplicado y cuadruplicado, las muestras controles y blancos de análisis se tratan igual que las muestras *Basella alba*.
5. Se agrega 6 mL de una solución coadyuvante de forma homogénea a cada muestra de *Basella alba*, muestra control y blancos de análisis, luego se enciende un cerillo de fósforo inmediatamente se introduce en la solución de cada crisol, este procedimiento se realiza en la campana de gases con el fin de acelerar la calcinación (Anexo N° 22).

6. Se procede a encender la mufla estableciendo el control de la temperatura en modo TUNE para obtener los parámetros óptimos de la temperatura de combustión a 550°C (**Gorsuch, 1958 & Kalra et al., 1998**) el cual se espera por dos horas en alcanzar la temperatura programada.
7. Luego se espera por un tiempo de 5 horas para que las muestras se calcinen.
8. Se apaga la mufla y se espera 15 minutos para sacar los crisoles y luego se colocan en un desecador hasta que alcanzan la temperatura del laboratorio.
9. Se procede a pesar cada uno de los crisoles con las cenizas y se anota el peso.
10. Se realizan los cálculos del % de cenizas totales según la siguiente ecuación:

$$\% CT_{bh} = \frac{M_2 - \overline{CT}_b - M_0}{M_1} \times 100 \% \quad (4.5)$$

$\% CT_{bh}$: Porcentaje de cenizas totales en base húmeda.

M_0 : Masa del crisol vacío (promedio de tres pesadas).

M_1 : Masa fresca (muestra control y muestra de análisis).

M_2 : Masa del crisol con la muestra calcinada.

\overline{CT}_b : representa el promedio de las cenizas totales de los blancos analíticos, únicamente debe incluirse si su valor es positivo

4.6.3.10. Preparación de la solución ácida digerida de las cenizas.

1. Se añade 5 mL de HCl concentrado a cada crisol y se verta el ácido en las paredes del crisol.
2. El ácido se evapora por calentamiento de los crisoles en baño maría controlando la temperatura con un termómetro a $90^{\circ}\text{C} \pm 5$ por un tiempo de 1 h aproximadamente, sin dejar que ebulle la solución.
3. Se redissuelve el residuo restante mediante la adición de 2 mL de HCl concentrado, teniendo cuidado de que la solución no se derrame fuera del crisol.
4. Se evaporan los residuos durante 5 minutos tapando los crisoles con sus respectivas tapas en baño maría.
5. Se dejan enfriar los crisoles hasta que alcanzan la temperatura del laboratorio y se transfieren cuantitativamente el digestado a un matraz volumétrico Pyrex clase A de 50 mL y se afora con agua destilada (Anexo N° 23).

4.6.3.11. Determinación de Hierro Total por el método colorimétrico de la orto-fenantrolina en las soluciones ácidas digeridas de las cenizas de las muestras de análisis, muestras control y blancos de análisis.

De la solución ácida digeridas de las cenizas obtenidas de las muestras de análisis, muestras controles y blancos se toman las siguientes alícuotas:

1. Para las muestras controles y blancos de análisis se miden 15 mL con una bureta clase A Álamo de 50 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico clase A Pyrex de 100 mL.

2. Para las muestras de espinaca *Basella alba* se miden 10 mL con una bureta case A Álamo de 50 mL y se trasvasa a un matraz volumétrico clase A Pyrex de 100 mL.
3. Se añade a cada uno de los matraces 1 mL de la solución clorhidrato de hidroxilamina al 10%, se agita vigorosamente tres veces el matraz y se deja reposar durante 5 minutos.
4. Se añade a cada uno de los matraces 5 mL de la solución buffer de acetato de sodio/ácido acético glacial, ajustándolos a un pH de 3.01 con la ayuda de un pHmetro GLP 21.
5. Se agrega a cada uno de los matraces 6 mL de la solución orto-fenantrolina al 0.1%, se afora con agua destilada, luego se invierten tres veces y se dejan reposar por 30 minutos tiempo que obtiene la máxima coloración el complejo ferroína.
6. Se enciende previamente el espectrofotómetro mientras alcanza sus parámetros óptimos.
7. Se ajusta la línea base del usuario por medio de la lectura del solvente que se utiliza en todo el análisis.
8. Luego se realizan las lecturas de los blancos de análisis, muestras control y muestras *B. alba* en el Espectrofotómetro UV/Vis Perkin Elmer Lambda EZ201 (Anexo N° 24).
9. Se calcula la concentración de Fe total en *mg/L (ppm)* de la solución ácida digeridas de las cenizas utilizando los datos de la curva de calibrado de los tres lotes, utilizando la siguiente ecuación.

$$A_c = a + b[Fe]_d \quad (4.6)$$

Donde

- A_c : absorbancia corregida de las muestra, $A_c = A_1 - \bar{A}_0$
- A_1 : absorbancia de las muestras controles y muestras de análisis.
- \bar{A}_0 : absorbancia promedio de cinco lectura de los blancos analitos.
- $[Fe]_d$: concentración de Fe diluida (mg/L) de la solución ácida digerida de las cenizas de las hojas de espinaca.
- a : ordenada en el origen
- b : pendiente de la recta

$$[Fe]_d \text{ (mg/L)} = \frac{(A_1 - \bar{A}_0) - a}{b} \quad (4.7)$$

10. Cálculo del resultado final promedio para cada una de las muestras analizadas en los tres lotes de espinaca.

Para el resultado final promedio de las muestras de espinaca se utiliza la siguiente ecuación:

$$[Fe]_m \text{ (mg/100 g)} = \frac{[Fe]_d \text{ (mg/L)} \times V \text{ (mL)} \times f}{M \text{ (g)}} \times \frac{1000 \text{ g}}{(100 \times 10) \text{ g}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \quad (4.8)$$

Dónde:

- $[Fe]_m \text{ (mg/100 g)}$: concentración de hierro final de la muestra expresada como relación masa/masa (mg Fe/ 100 g).
- $[Fe]_d \text{ (mg/L)}$ = concentración de Fe diluida de la solución ácida digeridas de las ceniza de las hojas.
- $V \text{ (mL)}$ = Volumen final de la solución ácida digerida 50 mL.
- $M \text{ (g)}$ = Masa adecuada de las hojas de espinaca para el analisis (15.00 mg)
- f = factor de dilucion

4.7. Técnica de obtención de información.

La encuesta es una técnica utilizada frecuentemente cuando se requiere obtener información de un universo grande de personas en un tiempo relativamente corto y de rápido procesamiento (**Piura, 2008**).

Se aplica una encuesta (Anexo N° 25) con el fin de conocer que parte de la planta utiliza la población nicaragüense a) hojas b) fruto c) ambos y de qué manera prepara la parte utilizada.

Se aplican satisfactoriamente un total de 45 encuestas (100%) en diferentes Departamentos de Nicaragua (Anexo N° 26). En el Anexo N° 27 se muestra dos ejemplos de las encuestas llenadas satisfactoriamente. En el Anexo N° 28 se detallan los resultados obtenidos para cada una de las preguntas realizadas en la hoja de encuesta y el análisis de las mismas.

En resumen, un 74 % de los encuestados seleccionan la opción a) y así mismo contestaron de qué manera preparaban la parte utilizada, por tal razón en esta investigación se definen las hojas como matriz analito de estudio para determinar la cantidad de hierro total.

CAPÍTULO V



ORGANIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5. ORGANIZACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La organización de los resultados inicia con la información obtenida de ensayos previos y se fundamenta en los objetivos del estudio.

5.1 Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.

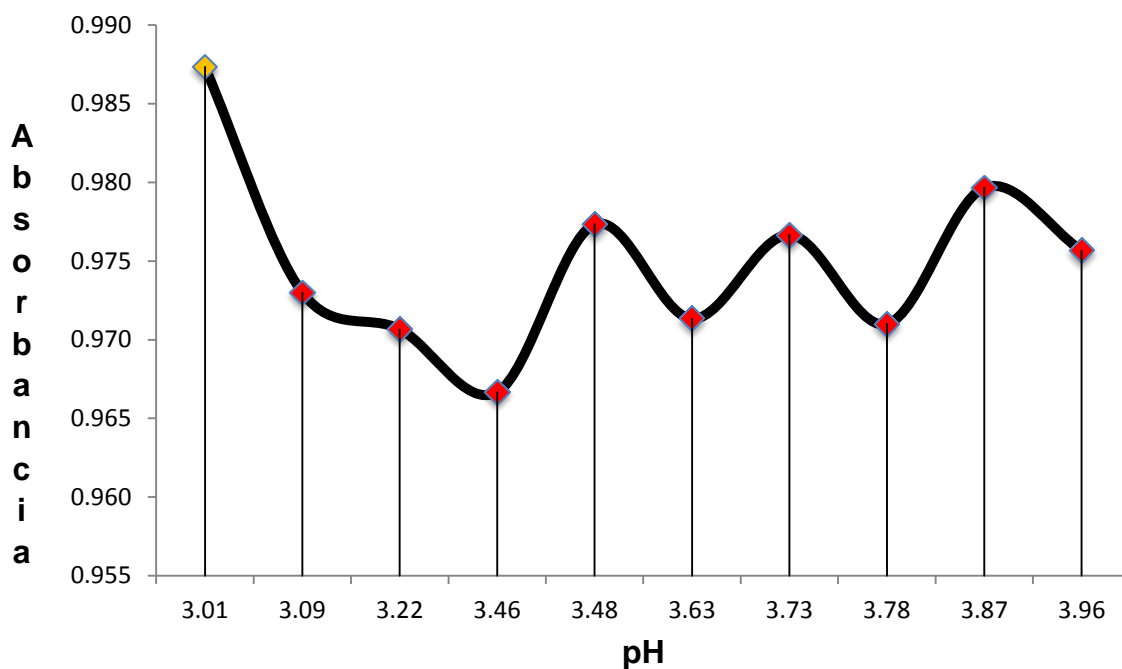
La Tabla 5.1 compila los resultados de la sección 4.6.3.3 de la metodología experimental.

Tabla 5.1 Influencia del pH en la absorbancia del complejo ferroína.

Etiquetas de los matraces	Vol. Alícuota ppm (mL)	Vol. de la Hidroxilamina (mL)	Vol. de la Fen (mL)	pH Teórico	pH Ajustado	Absorbancia
Soln 0.0	0.00	1	6	3.50	3.55	0.023
Soln 0.1	5.00	1	6	3.00	3.01	0.987
Soln 0.2	5.00	1	6	3.10	3.09	0.973
Soln 0.3	5.00	1	6	3.20	3.22	0.971
Soln 0.4	5.00	1	6	3.40	3.46	0.967
Soln 0.5	5.00	1	6	3.50	3.48	0.977
Soln 0.6	5.00	1	6	3.60	3.63	0.971
Soln 0.7	5.00	1	6	3.70	3.73	0.977
Soln 0.8	5.00	1	6	3.80	3.78	0.971
Soln 0.9	5.00	1	6	3.90	3.87	0.980
Soln 0.10	5.00	1	6	4.00	3.96	0.976

A partir de los datos reflejados en la Tabla 5.1 se elabora un Gráfico en la cual se presenta la relación del pH versus la absorbancia.

Gráfico 5.1 Dependencia de la absorbancia del complejo ferroína en función del pH.



Fuente: Elaborado por equipo de trabajo.

5.2 Determinación de humedad y residuo seco en las hojas *B. alba*, muestras control y blancos de análisis para los tres lotes.

En cuanto al segundo objetivo referido al método de secado se obtiene la determinación de humedad y residuo seco, posteriormente empleando el método de pretratamiento por combustión seca se obtienen los resultados de la determinación de las cenizas totales.

Lote de Espinaca N° 1 en el municipio de San Juan de Oriente (n= 30 muestras).

Tabla 5.2.1 Determinación de Humedad y Residuo seco en las muestras *B. alba*, controles y blanco de análisis en el punto de muestreo San Juan de Oriente (30 muestras).

Código	M ₁ (g)	M ₂ (g)	% H	% Rs
BC 1	18.9520	18.9518	0.001	-
BC 2	19.6336	19.6331	0.003	-
BC 3	19.5179	19.5177	0.001	-
BC 4	18.0833	18.0830	0.002	-
Promedios de los blancos (\bar{H}_b)			0.002	-
MTC 1	15.0010	0.9908	93.38	6.62
MTC 2	15.0020	0.9583	93.60	6.40
MTC 3	15.0009	0.9701	93.52	6.48
MTC 4	15.0003	0.9606	93.59	6.41
Promedio para las muestras controles			93.52	6.48
MTSJ 1	15.0006	1.3532	90.97	9.03
MTSJ 2	15.0009	1.5017	89.98	10.02

MTSJ 3	15.0013	1.4436	90.36	9.64
MTSJ 4	15.0050	1.3909	90.72	9.28
MTSJ 5	15.0033	1.3198	91.19	8.81
MTSJ 6	15.0012	1.4916	90.04	9.96
MTSJ 7	15.0008	1.3764	90.81	9.19
MTSJ 8	15.0003	1.3319	91.11	8.89
MTSJ 9	15.0006	1.2746	91.49	8.51
MTSJ 10	15.0048	1.4200	90.52	9.48
MTSJ 11	15.0025	1.2000	91.99	8.01
MTSJ 12	15.0006	1.2066	91.94	8.06
MTSJ 13	15.0005	1.2500	91.65	8.35
MTSJ 14	15.0034	1.5166	89.88	10.12
MTSJ 15	15.0023	1.4000	90.65	9.35
MTSJ 16	15.0032	1.4037	90.63	9.37
MTSJ 17	15.0009	1.5856	89.42	10.58
MTSJ 18	15.0008	1.5239	89.83	10.17
MTSJ 19	15.0043	1.5946	89.36	10.64
MTSJ 20	15.0022	1.5657	89.55	10.45
MTSJ 21	15.0021	1.7408	88.38	11.62
MTSJ 22	15.0038	1.515	89.89	10.11
MTSJ 23	15.0040	1.7334	88.43	11.57
MTSJ 24	15.0009	1.6000	89.32	10.68

MTSJ 25	15.0006	1.5000	89.99	10.01
MTSJ 26	15.0012	1.3500	90.99	9.01
MTSJ 27	15.0014	1.5000	89.99	10.01
MTSJ 28	15.0016	1.5800	89.45	10.55
MTSJ 29	15.0020	1.5928	89.37	10.63
MTSJ 30	15.0008	1.4572	90.27	9.73
Promedio de las muestras <i>B.alba</i>			90.27 ± 0.35*	9.73 ± 0.33*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis (masa vacía de la cápsula, promedio de tres pesadas).

MTC: Muestra control.

MTSJ: Muestra San Juan de Oriente.

% H: (ecuación 4.3).

% Rs: (ecuación 4.4)

\bar{H}_b : Humedad promedio de los blancos de análisis.

*Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 1$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.

Lote de Espinaca N° 2 en el municipio de Catarina (n= 12 muestras).

Tabla 5.2.2 Determinación de Humedad y Residuo Seco en las muestras *B. alba*, controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (12 Muestras).

Código	M₁(g)	M₂ (g)	% H	% Rs
BC1	19.8879	19.8874	0.003	-
BC2	17.9658	17.9642	0.009	-
Promedios de los blancos (\bar{H}_b)			0.006	-
MTC1	15.0012	0.9655	93.53	6.47
MTC2	15.0019	0.9656	93.53	6.47
Promedio para las muestras controles			93.53	6.47

MCTR₍₁₎ 1	15.0004	1.4899	90.03	9.97
MCTR₍₁₎ 2	15.0008	1.5479	89.64	10.36
MCTR₍₁₎ 3	15.0015	1.3757	90.79	9.21
MCTR₍₁₎ 4	15.0020	1.4537	90.27	9.73
MCTR₍₁₎ 5	15.0025	1.3755	90.79	9.21
MCTR₍₁₎ 6	15.0015	1.6227	89.14	10.86
MCTR₍₁₎ 7	15.0005	1.5449	89.66	10.34
MCTR₍₁₎ 8	15.0002	1.6303	89.09	10.91
MCTR₍₁₎ 9	15.0010	1.7917	88.02	11.98
MCTR₍₁₎ 10	15.0003	1.2833	91.40	8.60
MCTR₍₁₎ 11	15.0033	1.3166	91.18	8.82
MCTR₍₁₎ 12	15.0038	1.3166	91.18	8.82
Promedio de las muestras <i>B.alba</i>			90.10 ± 0.62*	9.90 ± 0.62*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis (masa vacía de las cápsulas, promedio de tres pesada).

MTC: Muestra control.

MCTR: Muestra Catarina.

% H: (ecuación 4.3).

% Rs: (ecuación 4.4).

\bar{H}_b : Humedad promedios de los blancos de análisis.

**Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 1$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.*

Lote de Espinaca N° 3 en el municipio de Catarina (n= 16 muestras).

Tabla 5.2.3 Determinación de Humedad y Residuo Seco en las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (16 Muestras).

Código	M ₁ (g)	M ₂ (g)	% H	% Rs
BC 1	19.5181	19.5169	0.006	-
BC 2	19.5189	19.5169	0.010	-
BC 3	18.9530	18.9525	0.003	-
BC 4	19.6358	19.6354	0.002	-
Promedio de los blancos (\bar{H}_b)			0.005	-
MTC 1	15.0006	1.0331	93.08	6.92
MTC 2	15.0009	0.9843	93.41	6.59
MTC 3	15.0090	1.1394	92.38	7.62
MTC 4	15.0057	1.1022	92.62	7.38
Promedio para las muestras controles			92. 87	7.13
MCTR ₍₂₎ 1	15.0001	1.1190	92.51	7.49
MCTR ₍₂₎ 2	15.0008	1.1022	92.62	7.38
MCTR ₍₂₎ 3	15.0007	1.0954	92.66	7.34
MCTR ₍₂₎ 4	15.0054	1.0941	92.68	7.32
MCTR ₍₂₎ 5	15.0021	1.1191	92.51	7.49
MCTR ₍₂₎ 6	15.0004	0.9642	93.54	6.46
MCTR ₍₂₎ 7	15.0007	0.9703	93.50	6.50
MCTR ₍₂₎ 8	15.0008	1.2405	91.70	8.30
MCTR ₍₂₎ 9	15.0029	1.0566	92.92	7.08
MCTR ₍₂₎ 10	15.0030	1.2095	91.90	8.10

MCTR₍₂₎ 11	15.0003	1.2311	91.76	8.24
MCTR₍₂₎ 12	15.0025	1.4356	90.40	9.60
MCTR₍₂₎ 13	15.0031	1.3405	91.03	8.97
MCTR₍₂₎ 14	15.0005	1.3784	90.78	9.22
MCTR₍₂₎ 15	15.0020	1.2621	91.55	8.45
MCTR₍₂₎ 16	15.0000	1.2277	91.78	8.22
Promedio de las muestras <i>B.alba</i>			92.11 ± 0.50*	7.89 ± 0.50*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis (masa vacía de las cápsulas, promedio de tres pesada).

MTC: Muestra control.

MCTR: Muestra Catarina.

% H: (ecuación 4.3).

% Rs: (ecuación 4.4).

\bar{H}_b : Humedad promedios de los blancos de análisis.

*Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 1$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.

5.3 Determinación de las cenizas totales en las muestras *B. alba*, muestras control y blancos de análisis para los tres lotes.

Después de haber obtenido el contenido de residuo seco se procede a eliminar el contenido de materia orgánica para obtener las cenizas totales donde está presente al analito de interés.

Lote de Espinaca N° 1 en el municipio de San Juan de Oriente (n= 30 muestras).

Tabla 5.3.1 Determinación de cenizas totales en las muestras *B. alba*, controles y blancos de análisis en el punto de muestreo San Juan de Oriente (30 Muestras).

Código	M ₀ (g)	M ₁ (g)	M ₂ (g)	% CT _{bh}
BC1	18.9540	0.0000	18.9518	-0.0022
BC2	19.6336	0.0000	19.6331	-0.0005

BC3	18.0820	0.0000	18.0820	-0.0098
BC4	19.5160	0.0000	19.5179	0.0019
Promedio de los blancos				-0.0027
MTC1	30.5771	15.0010	30.8262	1.66
MTC2	31.1609	15.0020	31.4088	1.65
MTC3	30.5771	15.0009	30.8056	1.52
MTC4	31.1609	15.0003	31.3569	1.31
Promedio de la muestra control				1.54
MTSJ1	18.9585	15.0006	19.9320	2.14
MTSJ2	19.8885	15.0009	20.8062	2.08
MTSJ3	17.9666	15.0013	18.9972	2.09
MTSJ4	18.2019	15.0050	19.2372	2.11
MTSJ5	19.47	15.0033	19.4855	1.94
MTSJ6	18.0429	15.0012	19.5250	1.94
MTSJ7	18.1397	15.0008	19.0595	2.22
MTSJ8	19.6174	15.0003	19.2623	2.03
MTSJ9	18.9582	15.0006	20.1851	1.98
MTSJ10	19.4914	15.0048	18.3024	2.24
MTSJ11	19.6342	15.0025	18.5300	2.19
MTSJ12	18.1388	15.0006	19.8005	2.20
MTSJ13	19.1947	15.0005	18.3770	2.23
MTSJ14	18.0431	15.0034	18.4481	2.06

MTSJ15	18.2011	15.0023	19.9148	1.98
MTSJ16	19.2327	15.0032	19.2765	2.12
MTSJ17	20.4934	15.0009	19.7928	2.01
MTSJ18	18.9523	15.0008	19.9518	2.12
MTSJ19	18.6838	15.0043	18.4661	2.18
MTSJ20	18.7071	15.0022	19.5014	2.04
MTSJ21	18.9201	15.0021	18.3722	2.19
MTSJ22	19.6161	15.0038	18.5200	2.13
MTSJ23	19.6115	15.0040	19.5465	2.09
MTSJ24	18.9585	15.0009	20.8169	2.16
MTSJ25	19.8885	15.0006	19.2735	2.14
MTSJ26	17.9666	15.0012	19.0320	2.32
MTSJ27	18.2019	15.0014	19.0060	1.99
MTSJ28	18.9201	15.0016	19.2188	1.99
MTSJ29	18.0429	15.0020	19.9470	2.21
MTSJ30	18.1397	15.0008	19.9143	2.02
Promedio de las muestras <i>B.alba</i>				2.10 ± 0.0048*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis (masa vacía de los crisoles, promedio de tres pesadas).

MTC: Muestra control.

MTSJ: Muestra San Juan de Oriente.

% CT_{bh} : (ecuación 4.5).

*Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 1$ grado de libertad y un nivel de confianza del 95%.

Lote de Espinaca N° 2 en el municipio de Catarina (n= 12 muestras).

Tabla 5.3.2 Determinación de cenizas totales en las muestras *B. alba*, controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (12 Muestras).

código	M₀ (g)	M₁ (g)	M₂ (g)	% CT_{bh}
BC1	19.8878	0.0000	19.8874	-0.0004
BC2	17.9658	0.0000	17.9641	-0.0017
Promedio de los blancos ($\overline{CT_b}$)				-0.0011
MTC1	30.5570	15.0012	30.8011	1.63
MTC2	31.1193	15.0019	31.3646	1.64
Promedio de la muestra control				1.64
MCTR₍₁₎1	18.9520	15.0004	19.2528	2.01
MCTR₍₁₎2	19.6103	15.0008	19.9068	1.98
MCTR₍₁₎3	19.6321	15.0015	19.9183	1.91
MCTR₍₁₎4	18.7059	15.0020	18.9950	1.93
MCTR₍₁₎5	18.0417	15.0025	18.3270	1.90
MCTR₍₁₎6	20.4918	15.0015	20.7885	1.98
MCTR₍₁₎7	19.2313	15.0005	19.5210	1.93
MCTR₍₁₎8	18.9585	15.0002	19.2505	1.95
MCTR₍₁₎9	18.2011	15.0010	18.4954	1.96
MCTR₍₁₎10	18.1382	15.0003	18.4165	1.86

MCTR₍₁₎11	19.1935	15.0033	19.4721	1.86
MCTR₍₁₎12	19.4680	15.0038	19.7505	1.88
Promedio de muestras <i>B.alba</i>				1.93 ± 0.031*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis. (Masa vacía de los crisoles, promedio de tres pesadas).

MTC: Muestra control.

MCTR₍₁₎: Muestra Catarina.

% CT_{bh}: (ecuación 4.5).

*Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 2$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.

Lote de Espinaca N° 3 en el municipio de Catarina (n= 16 muestras).

Tabla 5.3.3 Determinación de cenizas totales en las muestras *B. alba*, controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (16 Muestras).

Código	M ₀ (g)	M ₁ (g)	M ₂ (g)	% CT _{bh}
BC 1	18.0827	0.0000	18.0815	-0.0012
BC 2	19.5181	0.0000	19.5169	-0.0012
BC 3	18.9530	0.0000	18.9653	0.0123
BC 4	18.6358	0.0000	18.6488	0.0130
Promedio de los blancos ($\overline{CT_b}$)				0.0229
MTC 1	19.3609	15.0006	19.5363	1.16
MTC 2	18.9205	15.0009	19.1678	1.64
MTC 3	18.9525	15.0090	19.2098	1.71
MTC 4	19.4868	15.0057	19.7397	1.68
Promedio de las muestras controles				1.55

MCTR₍₂₎ 1	19.2506	15.0001	19.4636	1.41
MCTR₍₂₎ 2	19.6101	15.0008	19.8495	1.59
MCTR₍₂₎ 3	19.8969	15.0007	20.1210	1.49
MCTR₍₂₎ 4	19.1933	15.0054	19.4257	1.54
MCTR₍₂₎ 5	18.7252	15.0021	18.9611	1.57
MCTR₍₂₎ 6	18.2012	15.0004	18.4163	1.43
MCTR₍₂₎ 7	17.9942	15.0007	18.2218	1.51
MCTR₍₂₎ 8	19.4975	15.0008	19.7094	1.41
MCTR₍₂₎ 9	18.2376	15.0029	18.4528	1.43
MCTR₍₂₎ 10	18.7084	15.0030	18.9458	1.58
MCTR₍₂₎ 11	19.4877	15.0003	19.7158	1.51
MCTR₍₂₎ 12	18.1655	15.0025	18.3890	1.48
MCTR₍₂₎ 13	19.2336	15.0031	19.4558	1.48
MCTR₍₂₎ 14	17.9950	15.0005	18.2337	1.59
MCTR₍₂₎ 15	19.9068	15.0020	20.1529	1.63
MCTR₍₂₎ 16	19.5475	15.0000	19.7659	1.45
Promedio de muestras <i>B.alba</i>				1.51 ± 0.023*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis. (Masa vacía de los crisoles, promedio de tres pesadas).

MTC: Muestra control.

MCTR₍₂₎: Muestra Catarina.

% CT_{bh}: (ecuación 4.5).

*Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 2$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.

5.4 Primer Curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro para la cuantificación del primer lote de espinaca (San Juan de Oriente 30 muestras).

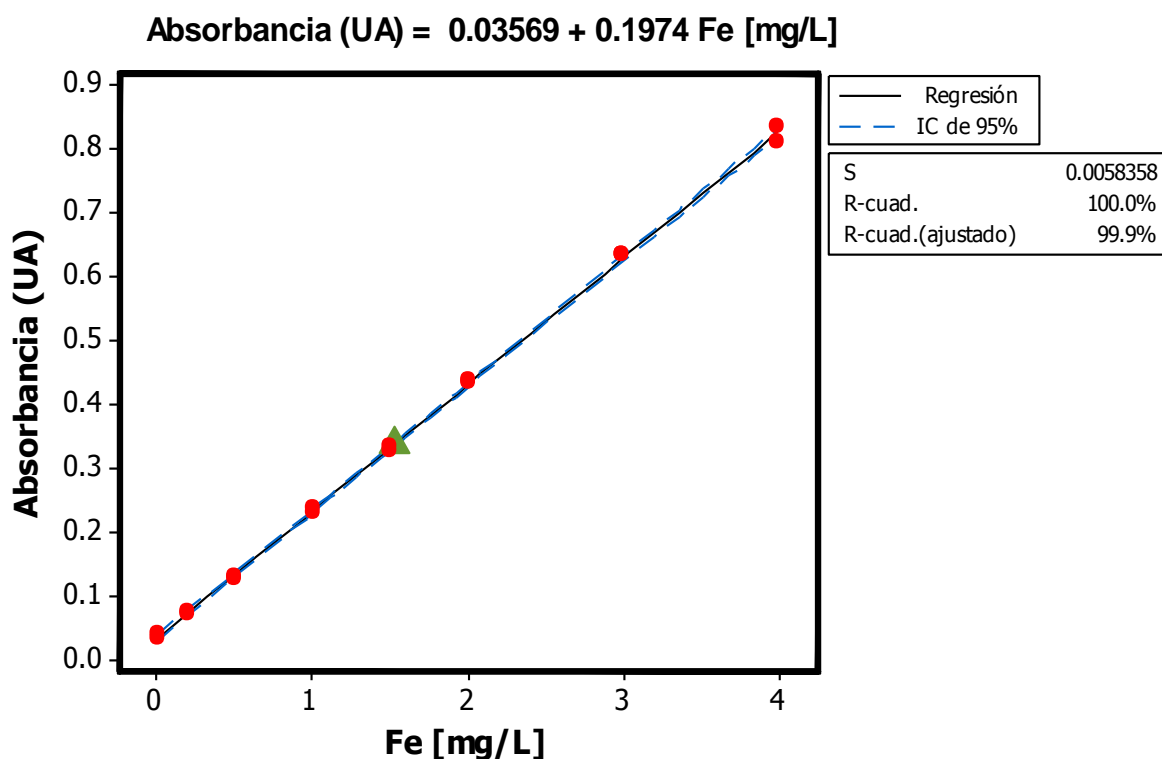
Tabla 5.4.1 Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda EZ 201.

Número de estándares	[Fe] (ppm)	Etiquetas del matraz	Absorbancias por estándar
1	0.0	Std 0.0	0.021
2	0.0	Std 0.0	0.018
3	0.2	Std 0.2	0.054
4	0.2	Std 0.2	0.060
5	0.5	Std 0.5	0.118
6	0.5	Std 0.5	0.118
7	1.0	Std 1.0	0.212
8	1.0	Std 1.0	0.216
9	1.5	Std 1.5	0.306
10	1.5	Std 1.5	0.291
11	2.0	Std 2.0	0.374
12	2.0	Std 2.0	0.352
13	3.0	Std 3.0	0.489
14	3.0	Std 3.0	0.480
15	4.0	Std 4.0	0.793
16	4.0	Std 4.0	0.786

Utilizando los datos reflejado en la Tabla 5.4.1 y el programa estadístico Minitab 16 se realiza la curva de calibración de mejor ajuste relacionando absorbancias en función de la concentración de hierro de los estándares (Gráfico 5.4.1).

Gráfico 5.4.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza (nivel de confianza del 95%) en cada punto de concentración 0.0-4.0 ppm de Fe.

El triángulo en color verde cerca de los estándares 1.5 ppm de [Fe] corresponde al centro de gravedad de esta curva de regresión.



Fuente: Elaborado por el equipo de trabajo.

En el Anexo 30 se muestra la hoja de cálculo en Microsoft Excel 2010 donde se resumen los estadísticos asociados a la mejor curva de calibrado presente en el Gráfico 5.4.1 y en el Anexo 33 se describen los cálculos manuales de los estadísticos para la curva de calibrado utilizados para la cuantificación del primer lote.

5.5 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis del primer lote por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.

Tabla 5.5.1 Determinación de la [Fe] total en las muestras *B. alba*, controles y blanco de análisis en el punto de muestreo San Juan de Oriente (30 muestras).

Etiquetas	pH	Absorbancia		[Fe] _d	[Fe] _m
		A ₀	A _c	(mg/L)	(mgFe/100g)
BC 1	3.02	0.027	$\bar{A}_0=0.0239$		
BC 2	3.02	0.019			
BC 3	3.04	0.0268			
BC 4	3.04	0.0228			
A ₁					
MTC1	3.04	0.182	0.1581	0.62011	1.38
MTC2	3.04	0.189	0.1651	0.65557	1.46
MTC3	3.02	0.192	0.1681	0.67077	1.49
MTC4	3.01	0.178	0.1541	0.59985	1.33
Promedio de la muestra control					1.41
MTSJ 1	3.01	0.196	0.1721	0.69103	2.30
MTSJ 2	3.01	0.186	0.1621	0.64037	2.13
MTSJ 3	3.05	0.167	0.1431	0.54412	1.81
MTSJ 4	3.03	0.182	0.1581	0.62011	2.07
MTSJ 5	3.06	0.202	0.1781	0.72143	2.40
MTSJ 6	3.05	0.191	0.1671	0.66570	2.22
MTSJ 7	3.08	0.232	0.2081	0.87340	2.91
MTSJ 8	3.01	0.174	0.1501	0.57958	1.93
MTSJ 9	3.05	0.209	0.1851	0.75689	2.52
MTSJ 10	3.03	0.188	0.1641	0.65051	2.17
MTSJ 11	3.02	0.197	0.1731	0.69610	2.32

MTSJ 12	3.02	0.204	0.1801	0.73156	2.44
MTSJ 13	3.09	0.198	0.1741	0.70117	2.34
MTSJ 14	3.09	0.240	0.216	0.91393	3.05
MTSJ 15	3.02	0.213	0.1891	0.77715	2.59
MTSJ 16	3.03	0.283	0.2591	1.13176	3.77
MTSJ 17	3.01	0.352	0.3281	1.48131	4.94
MTSJ 18	3.07	0.273	0.2491	1.08110	3.60
MTSJ 19	3.06	0.406	0.3821	1.75486	5.85
MTSJ 20	3.06	0.304	0.2801	1.23815	4.13
MTSJ 21	3.08	0.340	0.316	1.42052	4.73
MTSJ 22	3.02	0.323	0.2991	1.33440	4.45
MTSJ 23	3.02	0.344	0.3201	1.44078	4.80
MTSJ 24	3.04	0.292	0.2681	1.17736	3.92
MTSJ 25	4.06	0.281	0.2571	1.12163	3.74
MTSJ 26	3.04	0.299	0.2751	1.21282	4.04
MTSJ 27	3.01	0.302	0.2781	1.22801	4.09
MTSJ 28	3.06	0.126	0.1021	0.33642	1.12
MTSJ 29	3.01	0.292	0.2681	1.17736	3.92
MTSJ 30	3.05	0.283	0.2591	1.13176	3.77
Promedio de las muestras <i>Basella alba</i>.					3.20 ± 0.068*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis.

MC: Muestra control.

MSJ: Muestra de San Juan de Oriente.

A₁: Absorbancia promedio (5 lecturas).

Ac: Absorbancias corregidas.

[Fe]_d (mg/L): ecuación 4.7

[Fe]_m (mg/ 100g): ecuación 4.8

* Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para n – 2 grado de libertad y un nivel de confianza del 95%

5.6 Segunda Curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro para la cuantificación del segundo lote de espinaca (Catarina 12 muestras).

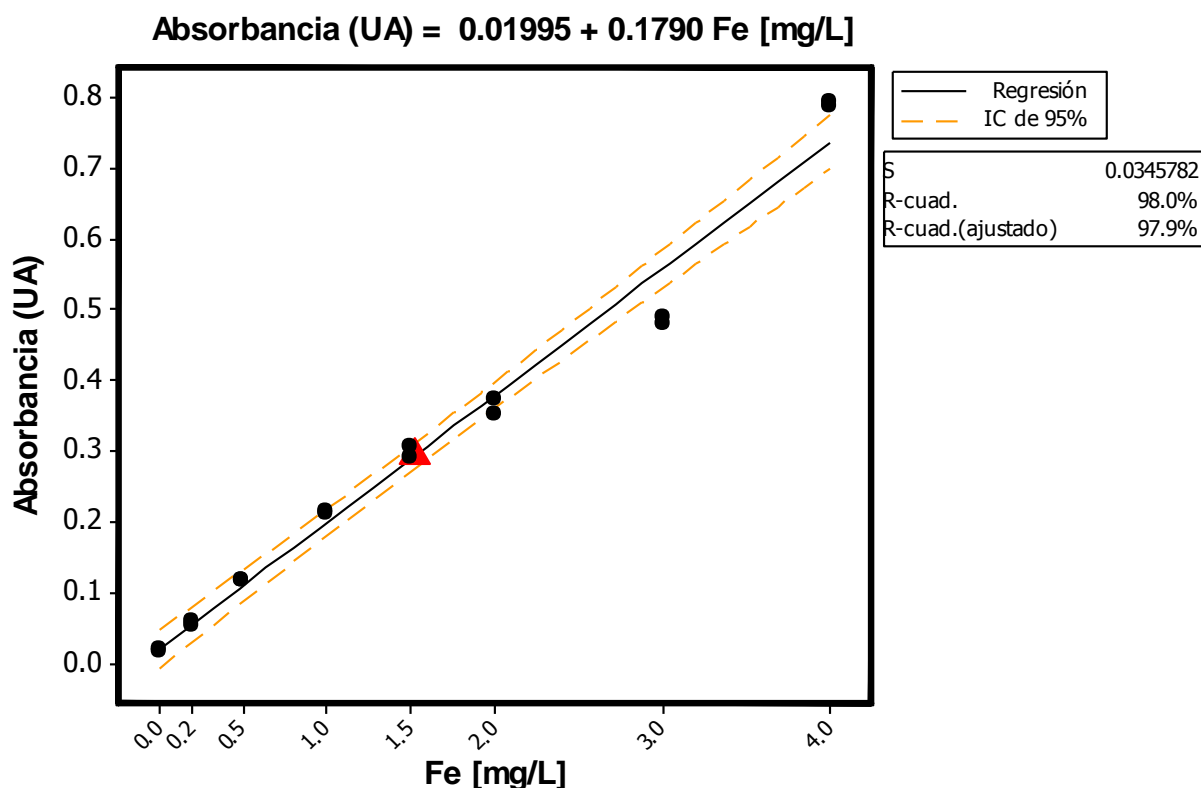
Tabla 5.6.1 Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda EZ 201.

Número de estándares	[Fe] (ppm)	Etiquetas del matraz	Absorbancias por estándar
1	0.0	Std 0.0	0.021
2	0.0	Std 0.0	0.018
3	0.2	Std 0.2	0.054
4	0.2	Std 0.2	0.060
5	0.5	Std 0.5	0.118
6	0.5	Std 0.5	0.118
7	1.0	Std 1.0	0.212
8	1.0	Std 1.0	0.216
9	1.5	Std 1.5	0.306
10	1.5	Std 1.5	0.291
11	2.0	Std 2.0	0.374
12	2.0	Std 2.0	0.352
13	3.0	Std 3.0	0.489
14	3.0	Std 3.0	0.480
15	4.0	Std 4.0	0.793
16	4.0	Std 4.0	0.786

Utilizando los datos reflejados en la Tabla 5.6.1 y el programa estadístico Minitab 16 se realiza la curva de calibración de mejor ajuste relacionando absorbancias en función de la concentración de hierro de los estándares (Gráfico 5.6.1).

Gráfico 5.6.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza (nivel de confianza del 95%) en cada punto de concentración 0.0-4.0 ppm de Fe.

El triángulo en color rojo cerca de los estándares 1.5 ppm de [Fe] corresponde al centro de gravedad de esta curva de regresión.



Fuente: Elaborado por el equipo de trabajo.

En el Anexo 31 se muestra la hoja de cálculo en Microsoft Excel 2010 donde se resumen los estadísticos asociados a la mejor curva de calibrado presente en el Gráfico 5.6.1 y en el Anexo 33 se describen los cálculos manuales de los estadísticos para la curva de calibrado utilizados para la cuantificación del segundo lote.

5.7 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis del segundo lote a partir de la curva de calibración de estándares externos conocidos de hierro.

Tabla 5.7.1 Determinación de la [Fe] total en las muestras *B. alba*, controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (12 muestras).

Etiquetas	pH	Absorbancia		[Fe] _d	[Fe] _m
		A ₀	A _c	(mg/L)	(mgFe/100g)
BC/1	3.0100	0.0410	Ā ₀ = 0.041		
BC/2	3.0200	0.0410			
A ₁					
MTC1	3.0200	0.2010	0.1600	0.7824	1.74
MTC2	3.0500	0.1970	0.1560	0.9891	2.20
Promedio de la muestra control					1.97
MCTR ₍₁₎ 1	3.0500	0.1790	0.1380	0.6595	2.20
MCTR ₍₁₎ 2	3.0300	0.1940	0.1530	0.7433	2.48
MCTR ₍₁₎ 3	3.0300	0.1360	0.0950	0.4193	1.40
MCTR ₍₁₎ 4	3.0600	0.1320	0.0910	0.3969	1.32
MCTR ₍₁₎ 5	3.0600	0.1980	0.1570	0.7656	2.55
MCTR ₍₁₎ 6	3.0800	0.1890	0.1480	0.7154	2.38
MCTR ₍₁₎ 7	3.0100	0.1570	0.1160	0.5366	1.79
MCTR ₍₁₎ 8	3.0100	0.1730	0.1320	0.6260	2.09
MCTR ₍₁₎ 9	3.0200	0.2012	0.1602	0.7835	2.61
MCTR ₍₁₎ 10	3.0200	0.1540	0.1130	0.5198	1.73
MCTR ₍₁₎ 11	3.0400	0.1340	0.0930	0.4081	1.36
MCTR ₍₁₎ 12	3.0500	0.1540	0.1130	0.5198	1.73
Promedio de las muestras <i>Basella alba</i> .					1.97 ± 0.447*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis.

MC: Muestra control.

MCTR: Muestra de Catarina.

A₁: Absorbancia promedio (5 lecturas).

A_c: Absorbancias corregidas.

[Fe]_d (mg/L): ecuación 4.7.

[Fe]_m (mg/ 100g): ecuación 4.8.

* Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para n -2 grados de libertad y un nivel de confianza del 95%.

5.8 Tercer Curva de calibración a partir de estándares externos de concentración conocida de hierro para la cuantificación del tercer lote de espinaca (Catarina 16 muestras).

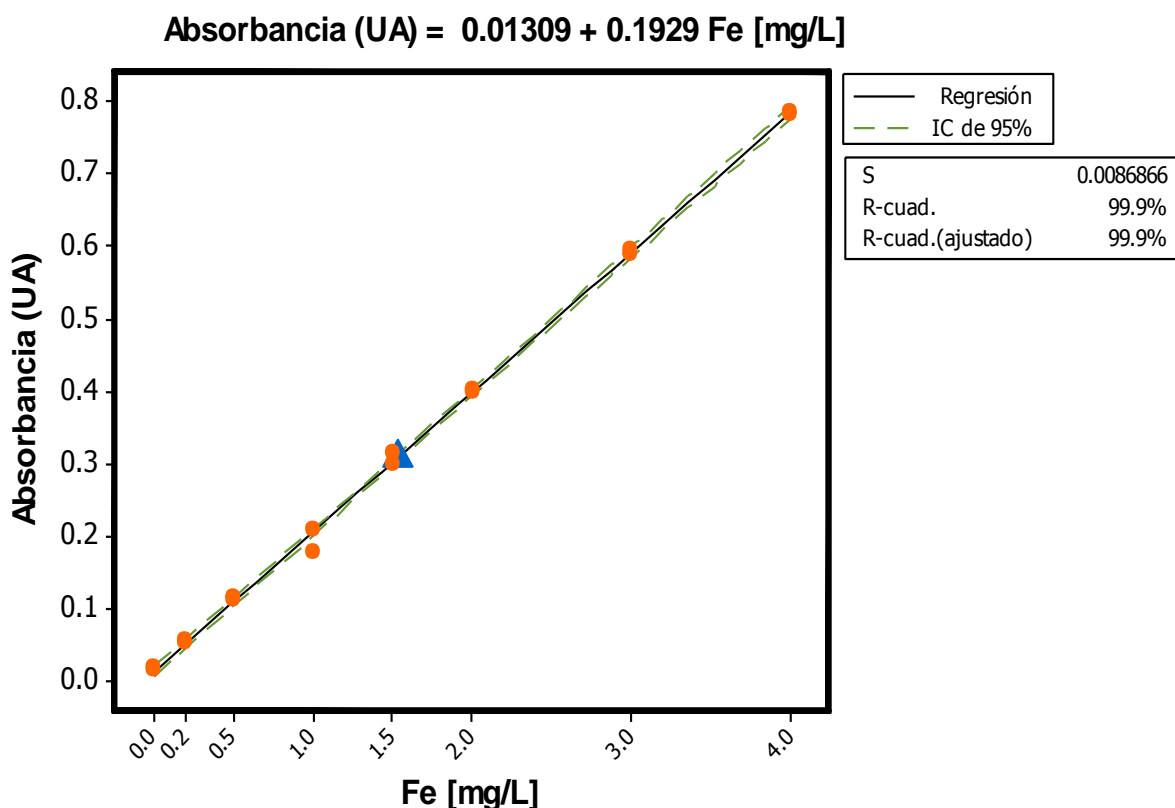
Tabla 5.8.1 Absorbancias obtenidas a partir de los estándares externos 0.0-4.0 mg/L Fe por duplicado, en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda EZ 201.

Número de estándares	[Fe] (ppm)	Etiquetas del matraz	Absorbancias por estándar
1	0.0	Std 0.0	0.017
2	0.0	Std 0.0	0.014
3	0.2	Std 0.2	0.054
4	0.2	Std 0.2	0.052
5	0.5	Std 0.5	0.114
6	0.5	Std 0.5	0.112
7	1.0	Std 1.0	0.176
8	1.0	Std 1.0	0.209
9	1.5	Std 1.5	0.299
10	1.5	Std 1.5	0.313
11	2.0	Std 2.0	0.403
12	2.0	Std 2.0	0.400
13	3.0	Std 3.0	0.588
14	3.0	Std 3.0	0.596
15	4.0	Std 4.0	0.784
16	4.0	Std 4.0	0.786

Utilizando los datos reflejados en la Tabla 5.8.1 y el programa estadístico Minitab 16 se realiza la curva de calibración de mejor ajuste relacionando absorbancias en función de la concentración de hierro de los estándares (Gráfico 5.8.1).

Grafico 5.8.1 Recta de calibrado no ponderada con sus respectivos límites de confianza (nivel de confianza del 95%) en cada punto de concentración 0.0-4.0 ppm de Fe.

El triángulo en color azul cerca de los estándares 1.5 ppm de [Fe] corresponde al centro de gravedad de esta curva de regresión.



Fuente: Elaborado por el equipo de trabajo.

En el Anexo 32 se muestra la hoja de cálculo en Microsoft Excel 2010 donde se resumen los estadísticos asociados a la mejor curva de calibrado presente en el Gráfico 5.6.1 y en el Anexo 33 se describen los cálculos manuales de los estadísticos para la curva de calibrado utilizados para la cuantificación del tercer lote.

5.9 Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis para el tercer lote por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.

Tabla 5.9.1 Determinación de la [Fe] total en las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis en el punto de muestreo Catarina (16 muestras).

Control y blancos de análisis en el punto de muestreo: Salamina (Fe húmedo).					
Etiquetas	pH	Absorbancia		[Fe] _d	[Fe] _m
		A ₀	A _c	(Fe mg/ L)	(Fe mg/ 100g)
BC 1	3.0500	0.0410	$\bar{A}_0= 0.0278$		
BC 2	3.0500	0.0384			
BC 3	3.0500	0.0202			
BC 4	3.0400	0.0114			
A ₁					
MTC1	3.0200	0.1766	0.1489	0.7038	1.56
MTC2	3.0200	0.1590	0.1313	0.6125	1.36
MTC3	3.0700	0.1754	0.1477	0.6976	1.55
MTC4	3.0500	0.1890	0.1613	0.7681	1.71
Promedio de la muestra control					1.55
MCTR1	3.0100	0.1426	0.1149	0.5275	1.76
MCTR2	3.0400	0.1518	0.1241	0.5752	1.92
MCTR3	3.0500	0.1680	0.1283	0.5973	1.99
MCTR4	3.0200	0.1670	0.1393	0.6540	2.18
MCTR5	3.0100	0.1810	0.1533	0.7266	2.42
MCTR6	3.0500	0.3742	0.3465	1.7281	5.76
MCTR7	3.0700	0.2784	0.2507	1.2315	4.10
MCTR8	3.0300	0.2370	0.2093	1.0169	3.39
MCTR9	3.0800	0.2390	0.2113	1.0273	3.42
MCTR10	3.0200	0.2830	0.2553	1.2554	4.18
MCTR11	3.0100	0.2418	0.2141	1.0418	3.47
MCTR12	3.0800	0.1858	0.1581	0.7515	2.50
MCTR13	3.0800	0.1490	0.1213	0.5607	1.87

MCTR14	3.0400	0.1390	0.1113	0.5089	1.70
MCTR15	3.0400	0.1738	0.1461	0.6893	2.30
MCTR16	3.0500	0.2590	0.2313	1.1309	3.77
Promedio de las muestras <i>Basella alba</i>.					2.92 ± 0.104*

Leyenda:

BC: Blanco de análisis.

MC: Muestra control.

MCTR: Muestra de Catarina.

A_1 : Absorbancia promedio (5 lecturas).

A_c : Absorbancias corregidas.

$[Fe]_d$ (mg/L): ecuación 4.7.

$[Fe]_m$ (mg/100g): ecuación 4.8.

* Límite de confianza estimado utilizando un contraste de dos colas para $n - 2$ grado de libertad y un nivel de confianza del 95%.

5.10. Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para consumir la cantidad específica de hierro en personas adulta que presentan anemia ferropénica.

Para realizar la estimación de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional se procede a utilizar el Formulario Nacional de Medicamentos (FNM) en el cual se describen las dosis para el tratamiento de la anemia ferropénica.

Dosificación para el grupo de personas adultas con anemia ferropénica.

Adultos: una tableta de 60 mg de hierro elemental diario por cuatro meses.

Embarazadas si ($Hb < 11$ mg / dl): dos tabletas de 60 mg de hierro elemental diario hasta el final del embarazo. (**FNM 2014, pág. 220**).

5.10.1 Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para los habitantes que presentan anemia ferropénica del municipio de San Juan de Oriente.

El tratamiento común que se prescribe en los Centros de Salud en estos municipios para las personas que padecen de anemia ferropénica son las tabletas de sulfato ferroso que contienen 60 mg de hierro elemental del cual solo 25 % de este mineral se absorbe en el organismo (**Laboratorio Ramos, 2016**).

Basado en lo anterior y utilizando el Formulario Nacional de Medicamentos, suponiendo que las personas cumplen con el tratamiento farmacológico la necesidad obtenida es la siguiente:

El requerimiento que no logra satisfacer la tableta de sulfato ferroso son 45 mg de hierro elemental, por lo tanto lo que deberá completar la masa de espinaca seca como alimento funcional son 45 mg de hierro en personas adultas con anemia ferropénica.

Cabe mencionar que para esta estimación solamente se utiliza la media aritmética de la cuantificación de hierro del primer lote para la población de San Juan de Oriente.

5.10.1.1 Estimación de la masa de espinaca para adultos:

$3.20 \text{ mg Fe} - 100 \text{ g espinaca}.$

$45 \text{ mg Fe} - m_f.$

$$m_f = \frac{(100 \text{ g} \times 45 \text{ mg Fe})}{3.20 \text{ mg Fe}} = 1,406.25 \text{ g}$$

m_f : Masa fresca de espinaca.

Con el objetivo de reportar una estimación más acertada de la ingesta de espinaca se realizó una búsqueda bibliográfica del porcentaje de liberación de hierro que ésta presenta. Jane E. & Denise J. (2001) realizaron un experimento *in vitro* donde mimetizan las condiciones estomacales las cuales fueron las siguientes 0.01 M de ácido clorhídrico y 0.19 % de pepsina para comprobar la liberación del hierro de las hojas de espinaca.

Bajo las condiciones antes mencionada y después de un tiempo de 4 horas se monitoreó el porcentaje de liberación de este mineral dando un porcentaje de 41%, esto indica que no todo el hierro disponible en las hojas es absorbido, por lo tanto la masa fresca tiene que ser corregida de la siguiente forma:

$$m_{fc} = m_f \times \frac{100}{41}$$

$$m_{fc} = 3,429.87 \text{ g.}$$

m_{fc} : Masa fresca de espinaca corregida.

Para convertir 3,429.87 g de espinaca fresca a masa bruta se debe tomar en cuenta la cifra de la fracción comestible indicada por la TCA-INCAP (sección 2.11, pág. 16). De acuerdo con la TCA, la fracción comestible de espinaca fresca es de **0.75%** por gramo.

Aplicando la fracción comestible se obtiene lo siguiente:

$$m_{fcb} = m_{fc} \times \frac{100}{75}$$

$$m_{fcb} = 4,573.17 \text{ g.}$$

m_{fcb} : Masa fresca de espinaca corregida bruta.

Masa fresca de espinaca corregida bruta en peso seco.

$$m_{fcb(bs)} = m_{fcb} \times C_{ms} = \frac{\% Rs}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 4.57 \text{ kg} \times \frac{9.73}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 0.44 \text{ kg}$$

Lo estimado que debe consumir una persona adulta con anemia ferropénica son **0.44 kg** de masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional

5.10.1.2. Estimación de la masa de espinaca para embarazadas:

Masa fresca de espinaca corregida bruta en peso seco.

$$m_{fcb(bs)} = 9.14 \text{ kg} \times \frac{9.73}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 0.88 \text{ kg}$$

Como se puede apreciar en las dosis referidas en el FNM para embarazadas con anemia ferropénica requiere el doble de la dosis de una persona adulta y tomando en cuenta el porcentaje de absorción de la tableta, por lo tanto se multiplica por dos el valor estimado para una persona adulta, dando un valor de 0.88 kg de espinaca bruta en base seca una vez al día, que debe consumir como alimento funcional una mujer en gestación.

Tabla 5.10.1 Variación de la masa de espinaca fresca aplicando los factores de corrección: a) liberación de hierro ($\times 2.44$), b) fracción comestible ($\times 1.333$) y c) $m_{fcb(bs)}$ = peso seco de la hoja de espinaca

Población de San Juan de Oriente.				
Grupos de pacientes	m_f (kg)	m_f Corregida con a (kg)	m_f corregida con a y b (kg)	$m_{fcb(bs)}$ (kg)
Adultos	1.4	3.4	4.57	0.44
Embarazadas	2.81	6.8	9.14	0.88

Fuente: Equipo de trabajo.

5.10.2. Valoración de la masa bruta de espinaca en base seca como alimento funcional para los habitantes que presentan anemia ferropénica del municipio de Catarina.

Para la población de Catarina se utiliza las medias aritméticas de los lotes dos y tres provenientes de esta zona, los cuales dieron un valor de 2.45 mg Fe/100 g de espinaca fresca.

5.10.2.1 Estimación de la masa de espinaca para adultos:

$$\begin{aligned} & 2.45 \text{ mg Fe} - 100 \text{ g espinaca} \\ & 45 \text{ mg Fe} - x \text{ g.} \\ & \frac{(100 \text{ g} \times 45 \text{ mg Fe})}{2.45 \text{ mg Fe}} = 1,836.73 \text{ g } m_f. \end{aligned}$$

Aplicando el porcentaje de absorción del hierro

$$m_{fc} = m_f \times \frac{100}{41}$$

$$m_{fc} = 4,479.82 \text{ g.}$$

Aplicando la fracción comestible se obtiene lo siguiente:

$$m_{fcb} = m_{fc} \times \frac{100}{75}$$

$$m_{fcb} = 5,973.09 \text{ g.}$$

Masa fresca de espinaca corregida bruta en peso seco.

Para estimar la masa de espinaca en peso seco se tomó el promedio de los lotes dos y tres del porcentaje de residuo seco

$$m_{fcb(bs)} = m_{fcb} \times C_{ms} = \frac{\% Rs}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 5.97 \text{ kg} \times \frac{8.89}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 0.53 \text{ kg en peso seco}$$

Lo estimado que deberá consumir las personas adultas con anemia ferropénica de la población de Catarina son **0.53 kg** de espinaca bruta en peso seco como alimento funcional una vez al día.

5.10.2.2. Estimación de la masa de espinaca para embarazadas:

Masa fresca de espinaca corregida bruta en peso seco.

$$m_{fcb(bs)} = 11.94 \text{ kg} \times \frac{9.73}{100}$$

$$m_{fcb(bs)} = 1.06 \text{ kg en peso seco}$$

Al igual como se procede en la sección 5.10.1.2 únicamente se toma el valor de las personas adultas que padecen anemias ferropénica y se multiplica por dos dando un valor estimado de **1.06 kg** de espinaca bruta en peso seco que debe consumir como alimento funcional una vez al día.

Tabla 5.10.2 Variación de la masa de espinaca fresca aplicando los factores de corrección: a) liberación de hierro ($\times 2.44$) , b) la fracción comestible ($\times 1.333$) y c) $m_{fcb(bs)}$ = peso seco de la hoja de espinaca

Población de Catarina.				
Grupos de pacientes	m_f (kg)	m_f Corregida con a (kg)	m_f corregida con a y b (kg)	$m_{fcb(bs)}$ (kg)
Adultos	1.83	4.47	5.97	0.53
Embarazadas	3.67	8.95	11.94	1.06

Fuente: Equipo de trabajo.

5.11 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.

El análisis de los resultados al igual que la organización de los mismos se basa en los objetivos del estudio.

El análisis de los resultados se detalla siguiendo el orden en que se realizan los procedimientos analíticos, uno de la comprobación de la influencia del pH y tres realizados a cada lote de espinaca. Cabe mencionar que debido al tamaño de los lotes analizados se presenta el resultado de 58 muestras que representan el total de los tres lotes a los cuales se les realizan el mismo procedimiento.

5.11.1 Influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.

Para obtener el valor óptimo de pH donde el complejo ferroína desarrolla con mayor intensidad su color, se procede a realizar este ensayo puesto que según el Método Oficial 944.02 tomado de la (AOAC) sugiere un pH entre los intervalos de 3-4 y no un valor específico, por esta razón se precede a realizar el ensayo previo para determinar el valor del pH óptimo según la metodología experimental de la sección 4.6.3.3.

En el Gráfico 5.1 se puede apreciar la relación de la absorbancia con respecto al pH. En éste claramente se observa que la solución 0.1 con un pH ajustado a 3.01 presenta la máxima absorción (0.988 unidades de absorbancia) con respecto a las demás soluciones, considerando entonces que esta solución presenta el pH óptimo en el cual se obtiene la máxima absorción, se procede a ajustar los estándares y demás soluciones a un pH de 3.01.

5.11.2 Determinación de humedad y residuo seco en las hojas *B. alba*, muestras control y blancos de análisis.

A cada lote de espinaca se realiza la determinación de humedad y residuo seco con el objetivo de eliminar el agua presente en las hojas debido a que el alto contenido que éstas presentan interfieren al momento de realizar la determinación de las cenizas totales.

Desde este procedimiento hasta el final del análisis se utiliza como muestra control la espinaca enlatada “LEAF SPINACH” distribuida internacionalmente por **Del monte Quality** la cual pertenece a la especie *Spinacea oleracea* (Anexo N° 20), debido a que la etiqueta no declara el valor de humedad se indagó en la Base de Datos Nacional de Nutrientes para Referencias Estándares (NND SR) del Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América (USDA). En la Tabla 20.1 de éste mismo Anexo se muestra de forma detallada la composición química de la espinaca enlatada la cual declara un valor de **93.22 g** de agua/100 g, es decir **93.22 %** de humedad.

A continuación en la Tabla 5.11.1 se detalla la comparación del valor reportado por el NND SR y los resultados promedios de las muestras controles incluidas en cada lote de espinaca.

Tabla 5.11.1 Comparación del porcentaje de humedad de muestras controles con un valor de Referencia Teórico.

		N° de muestras	% <i>H</i>	% <i>e_r</i>
Valor de Referencia NND SR		226	93.22	
N° Lotes	Lote N° 1	4	93.52	0.32
	Lote N° 2	2	93.53	0.33
	Lote N° 3	4	92.87	0.37

Al retomar los resultados promedios de las muestras controles de las Tablas 5.2, 5.3, y 5.4 de este mismo apartado se puede observar la inclusión de

dicha muestra por cuadruplicado para el lote N° 1 y N° 3 y para el lote N° 2 por duplicado (valor promedio resaltado en color aguamarina). Tal como se puede ver en la Tabla 5.11.1 al contrastar el valor de referencia con los valores de las muestras controles se obtiene un error relativo menor al 1 % lo cual se considera aceptable debido a que el error relativo de las muestras controles es mínimo.

Como se mencionó en la sección 2.1.3 (pág.10) del Marco Teórico la especie endémica de los sitios de muestreo pertenece a la especie *Basella alba* por lo tanto no se utiliza el valor de referencia del NNDSR utilizado para las muestras controles, si no que se utiliza el que se presenta en la Tabla 2.3 (pág. 16) del Marco Teórico.

Tabla 5.11.2 Comparación del porcentaje de humedad para las muestras de análisis.

		% H	% e_r
Valor declarado por TCA-INCAP		91.40	
Valores promedios de las muestras de análisis			
Lote N° 1		90.27%	1.23
Lote N° 2		90.10%	1.42
Lote N° 3		92.11%	0.77

Los valores obtenidos del porcentaje de humedad promedio de las muestras de análisis son los siguientes: **90.27 ± 0.35** para el lote N° 1, **90.10 ± 0.62** para el lote N° 2 y **92.11 ± 0.50** para el tercer lote, al contrastar estos valores con el valor de referencia teórico se obtiene errores relativos aceptables debido a que estos no superan la unidad lo cual indica que esta etapa preparatoria se realiza satisfactoriamente previo a la determinación de las cenizas totales (*Chaturvedi et al., 2013*).

Evidentemente como los valores de humedad son aceptables también lo son para los del residuo seco ya que es la porción inversa de la humedad de las muestras controles y muestras de análisis.

5.11.3 Determinación de las cenizas totales en las hojas *B. alba*, muestras control y blancos de análisis.

Tal como se mencionó anteriormente el número de muestra control se mantiene inalterable por cada uno de los lotes ya que se utiliza en todo el análisis.

La tabla de información nutricional de la etiqueta de la muestra control no reporta el valor de cenizas totales, entonces al igual que en la determinación de humedad se utiliza el valor que declara la (NND SR) de la Tabla 20.1 del (Anexo N° 20) la cual declara un valor nominal de 1.38 g de cenizas totales/100 g de espinaca, es decir 1.38 % de minerales totales. Al retomar los valores promedios de dichas muestras en las Tablas 5.3.1, 5.3.2 y 5.3.3 (valores resaltados en color agua marina) se puede observar que estos se asemejan al reportado por la NND SR, generando buenas recuperaciones.

Con respecto a los resultados de las cenizas totales de las muestras *Basella alba* de los tres lotes se procede a calcular el porcentaje del coeficiente de variación (% CV) los cuales se detallan en la Tabla 5.11.3.

Tabla 5.11.3 Porcentaje de CV calculados en los tres lotes.

N° de lotes	N° de muestras	% CV
Lote N° 1	30	4.64
Lote N° 2	12	2.51
Lote N° 3	16	4.70

Para métodos gravimétricos es aceptable un $CV < 5\%$ esto quiere decir que en este estudio se realiza con satisfacción el método de pretratamiento de combustión seca debido a que los valores que se observan en la Tabla 5.11.3 de los tres lotes son menores a 5%, esto indica que los datos del porcentaje de cenizas totales de las muestras de análisis son de confiabilidad.

De igual manera en el mismo estudio de N. Chaturvedi el contenido de ceniza total reportado es de 16.57% al comparar con los resultados presentado en este estudio no demostraron ninguna similitud, debido a que las condiciones edáficas no son iguales y se desconoce la etapa de pretratamiento

5.11.4. Determinación de hierro total en las cenizas digeridas de las muestras *B. alba*, muestras controles y blancos de análisis por medio de una curva de calibración de estándares externos de concentración conocida de Fe.

En la determinación de hierro total en las muestras de análisis se utiliza las soluciones ácidas digeridas de las cenizas (sección 4.6.3.10 del Apartado Diseño Metodológico, Anexo N° 23). De la cual se toma una alícuota para la aplicación del método colorimétrico de la orto-fenantrolina y finalmente la lectura en el espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda EZ201 (sección 4.6.3.11 del Apartado Diseño Metodológico, Anexo N° 24).

El valor de referencia para la muestra control se toma de la etiqueta del producto “LEAF SPINACH” (Anexo N° 20). El contenido de hierro reportado es del 15 % que equivalen a 2.1 mg para una porción de media tasa (113.4 g) sin escurrir, suponiendo que la concentración de hierro se encuentre homogéneamente distribuida en el producto en 100 g del mismo habrá 1.85 mg de hierro que es el valor teórico utilizado de referencia en este estudio. En la Tabla 5.11.4 a continuación se reflejan los porcentajes de recobro de las muestras controles:

Tabla 5.11.4 Porcentaje de recobro en las muestras controles.

N° de Lotes	N° de muestras controles	$\overline{[Fe]}_m$ (mg /100 g)	Valor de Referencia Teórico	% R
Lote N° 1	4	1.41	1.85	76.21
Lote N° 2	2	1.97		106.48
Lote N° 3	4	1.55		83.78

En la Tabla 5.11.4 se puede observar los valores promedios de las concentraciones de hierro que se obtienen de las muestras controles en cada lote, así como el porcentaje de recobro de cada uno. Estas recuperaciones se consideran aceptables debido a que algunos datos se encuentran dentro del rango de recuperación permitido (80-110) (*Eurachem, 2014*)

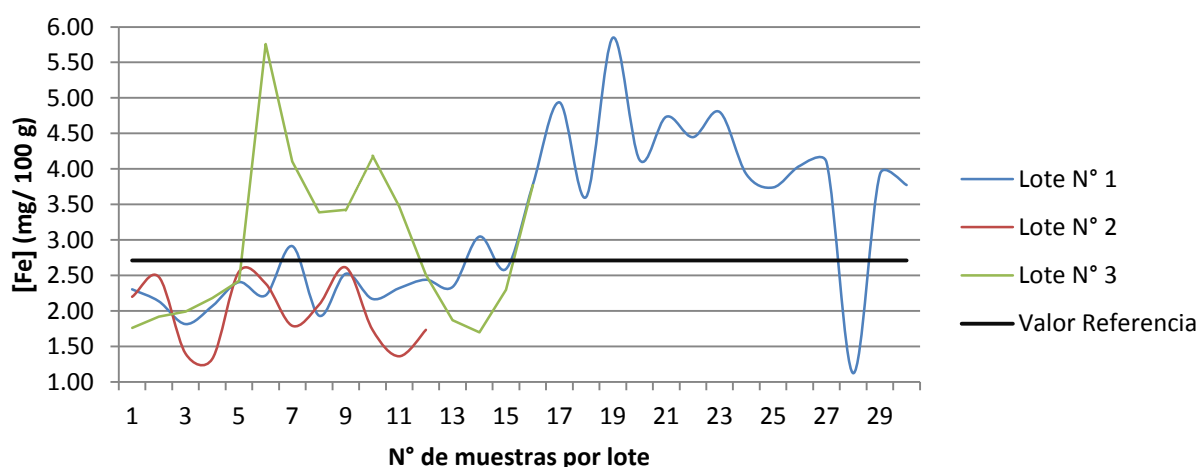
En cuanto a las 58 muestras de interés después de haber determinado el porcentaje de cenizas totales posteriormente se realizan las respectivas estimaciones de hierro total en las hojas *Basella alba*. En la Tabla 5.11.5 se presentan los promedios de las determinaciones de hierro total en cada lote de espinaca calculada por medio de la ecuación 4.8 de la sección 4.6.3.11 y sus respectivos límites de confianza.

Tabla 5.11.5 Resultado promedio de la [Fe] para cada lote.

Nº Lotes	$\overline{[Fe]}_m$ (mg/100 g)
Lote N° 1	3.20 ± 0.068
Lote N° 2	1.97 ± 0.447
Lote N° 3	2.92 ± 0.104

Al contrastar los datos de las concentraciones de hierro total de las muestras de cada lote con el valor teórico de la concentración de hierro reportado en la TCA del INCAP (2.71 mg/100 g) el cual se toma como referencia para este estudio genera el Gráfico 5.11.1.

Gráfico 5.11.1 Comparación de la [Fe] reportada por la TCA con las [Fe] de las muestras de los tres lotes.



El Gráfico 5.11.1 muestra el comportamiento de las [Fe] de las muestras de análisis de cada lote con respecto al valor de referencia. La línea en color

negro representa el valor teórico de referencia y las curvas que oscilan alrededor de esta línea a las concentraciones de hierro de cada lote, algunos datos de las concentraciones de hierro de las muestras de análisis intersectan esta línea lo que indica que se igualan al valor de referencia teórico, se asume entonces que las 58 determinaciones se realizan satisfactoriamente en esta etapa final obteniendo datos de calidad.

5.11.5 Valoración de la masa bruta de espinaca en peso seco como alimento funcional para consumir la cantidad específica de hierro en aquellas personas que presentan anemia ferropénica.

Los resultados de la estimación de la masa bruta de espinaca para consumir la cantidad de específica de hierro se basa en las dosis de hierro que reporta el FNM y el porcentaje de absorción de la tableta de sulfato ferroso reportado por el Laboratorio Ramos, para el grupo etario afectado con anemia ferropénica (adultos, embarazadas), para establecer estas dosis se utiliza la media aritmética de la cuantificación de cada lote. Con el objetivo de comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de cada lote se procede a realizar un Análisis de Varianza (ANOVA) para posteriormente realizar la estimación de la masa bruta de espinaca.

Al realizar el test en Minitab se obtienen los siguientes datos que se detallan en la Salida 5.11.1, lo que demuestra que el valor p calculado es de 0.004 menor que el valor alfa (0.05) establecido, por lo tanto se demuestra que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los lotes.

Salida 5.11.1 Resultado de Minitab para el análisis de varianza.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
N° Lote	2	13.08	6.54	5.99	0.004
Error	55	60.06	1.09		
Total	57	73.14			

S = 1.045 R-cuad. = 17.89% R-cuad. (Ajustado) = 14.90%

Demostrado lo anterior se procede a encontrar los pares de medias que presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí, para esto se aplica la comparación múltiple de Tukey (Salida 5.11.2) la cual agrupa los lotes por letra, aquellos lotes que no compartan ninguna letra presentan diferencias estadísticamente significativas, por lo tanto el lote uno y dos presentan diferencia entre ellos ya que no comparten la misma letra lo que implica que no pertenecen al mismo grupo de datos mientras que el lote dos con el tres comparten letras entre ellos por lo tanto no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Salida 5.11.2 Resultado de Minitab para la comparación múltiple de Tukey.

Agrupar información utilizando el método de Tukey

N° Lote	N	Media	Agrupación
Lote 1	30	3.20	A
Lote 3	16	2.92	A B
Lote 2	12	1.97	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Salida 5.11.3 Resultado de Minitab de los intervalos de cada par de media.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de N° Lote

Nivel de confianza individual = 98.07%

N° Lote = Lote 1 restado de:

N° Lote	Inferior	Centro	Superior	
Lote 2	-2.093	-1.233	-0.372	(-----*-----)
Lote 3	-1.062	-0.282	0.498	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
 -1.2 0.0 1.2 2.4

N° Lote = Lote 2 restado de:

N° Lote	Inferior	Centro	Superior	
Lote 3	-0.011	0.951	1.913	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
 -1.2 0.0 1.2 2.4

Como se puede apreciar en el la Salida 5.11.3 en el caso del lote uno y dos en la recta numérica el límite superior e inferior son de igual signo lo que implica que no pertenecen al mismo grupo de datos, el lote dos y tres no presentan diferencias estadísticamente significativas debido a que el límite superior e inferior de su centro son de signos diferentes lo cual establece que las medias son iguales y no existen diferencias entre ellas.

Basado en el análisis de varianza (ANOVA) y el método de Tukey se toma la decisión de reportar un valor con la media del primer lote para la población de San Juan de Oriente y otro valor con los promedios del lote dos y lote tres para la población de Catarina, a pesar que el lote tres y el lote uno no presentan diferencias estadísticamente significativas no se promediaron ya que no pertenecen al mismo municipio.

Con el objetivo de reportar una estimación más acertada de la ingesta de la masa bruta de espinaca en base seco como alimento funcional se toma en cuenta la corrección del porcentaje de liberación de hierro de la espinaca (**Jane & Denise, 2001**), la corrección de la fracción comestible (**TCA-INCAP, 2012**) y el porcentaje de absorción de la tableta de sulfato ferroso (**Laboratorios Ramos, 2016**), las que se aplican al promedio del primer lote y la media aritmética total del segundo y tercer lote, para presentar las dosis de hierro estimada de la masa bruta de espinaca en peso seco que debe consumir el grupo etario afectado con anemia ferropénica.

CAPITULO VI



CONCLUSIONES

En base al análisis de los resultados se desprenden las siguientes conclusiones:

1. Las encuestas muestran que la población Nicaragüense utiliza directamente las hojas de espinaca cortándolas en tamaños pequeños, por esta razón las hojas de espinaca fueron definida como matriz de estudio.
2. El contenido de humedad promedio de las muestras *B.alba* es de **90.83 %**, lo que implica que **9.17 %** restante corresponde al residuo seco promedio.
3. Las cenizas totales de los tres lotes dan un promedio de **1.84 %** con un coeficiente de variación total de **3.95 %**, obteniendo resultados satisfactorios.
4. El método colorimétrico de la orto-fenantrolina que se utiliza para la cuantificación de hierro total en las muestras *Basella alba* es apropiado para tal fin.
5. Con base en las medias de las concentraciones de hierro total de cada lote se reportar un valor de masa bruta de espinaca en peso seco como alimento funcional para las personas que padecen de anemia ferropénica de San Juan de Oriente: adultos **0.44 kg** en peso seco una vez al día, embarazadas **0.88 kg** en peso seco una vez al día y otros valores para el grupo de personas con anemia ferropénica de Catarina: adultos **0.59 kg** en peso seco una vez al día, embarazadas **1.06 kg** en peso seco una vez al día .

RECOMENDACIONES



- ✍ Presentar el presente trabajo investigativo a las autoridades del centro de salud y alcaldía de los municipios de San Juan de Oriente y Catarina para promover el uso del contenido seco de espinaca como alimento funcional, mediante charlas y brochure donde destaque la importancia del uso de la espinaca en la anemia.

- ✍ Elaborar un producto a base de espinaca en peso seco y posteriormente realizar estudios *in vivo* para observar el porcentaje de liberación de hierro en las personas que padezcan anemia ferropénica

- ✍ Comprobar estos resultados del contenido de hierro en las hojas *Basella alba* en otros sitios edáficos de Nicaragua para observar si existe alguna variación en la concentración de hierro.

BIBLIOGRAFÍA



- A2Z, P. (2010). *MANUAL OF Methods for Determining Micronutrients in Fortified Food*. Palestina: USAID.
- ACD/Labs. (2008). ACD/ChemSketch: Drawing Chemical Structures and Graphical Images, Version 12.0. USA.
- APHA, A. &. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition*. Washington: American Public Health Association. Obtenido de APA.
- Chaturvedi .N, P. S. (2013). Comparación Nutricional y Análisis Fitoquímico de Cultivos de Espinaca: *B.alba* y *S.oleracea*. *Internatinal Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 674-677.
- Denise J.Crispin, J. E. (2002). Iron Release from Spinach: Effects of Treatment on Levels of Iron(II) and (III) release in vitro. *Elsevier Sciens*, 117-123.
- Denton O.A, G. G. (2004). Plant Resource of Tropical Africa. *En Prota*, 167-171.
- Drago Serrano et al, (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 37. Distrito Federal, México
- Espinoza, A. P. (2003). *Estudios de Anemia Ferropénica*. Managua.
- EURACHEM. (2014). A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- Rubinson Kenneth & Robinson ,J (2001). *Análisis Instrumental* . Madrid: Pearson Educación.
- FAO. (2006). *Calendario de Cultivos de America Latina y el Caribe*. Mexico: Pearson
- FNM (2014). Formulario Nacional de Medicamentos pág 220
- GORSUCH, T. (1958). Radiochemical Investigations on the Recovery for Analysis of Trace Elements in Organic and Biological Materials. *Journal Homepage*, 158-159.
- Edmond,J (2000). *Principios de Horticultura*. Mexico: C.E Continental.
- Piura (2008). *Metodología de la Investigación Científica*. Managua: Xerox.

- Jaime, Manzanares, R., (2012). *Determinación de Hierro Total en el fruto de Cassia grandis* L.F. Managua: UNAN-Managua.
- Kirk, R. (2006). *Composición y Análisis de Alimentos*. México: CECSA Pearson.
- Laboratorios Ramos (2016). *Vademecum* tercera edición, Managua-Nicaragua C.A
- Mares Morales, C. .. (4 de 12 de 2012). *Alimentaria Online*. Obtenido de www.alimentariaonline.com
- Miller J, & M. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica, Cuarta Edición*. Madrid: Pearson Educación S.A.
- Minitab. (20 de 5 de 2007). *Software para Estadística de Minitab, Versión 16 para Windows*. Pennsylvania.
- Oladele, T. &. (2009). Influencia de Diferentes Métodos de Secado y Almacenamiento sobre la Calidad de la Espinaca. *America Journal of Technology*, 1-5.
- P.Karla, Y. (1998). *Manual de Método de Referencias para Análisis de Planta*. New York: CRC Press.
- S.B, D. (2006). *Química de los Alimentos*. Mexico: Pearson.
- Sampieri R. Collado, &. L. (2006). *Metodología de la Investigación* . Mexico: McGraw Hill.
- Shurthi SD, R. A. (2012). Una Revisión sobre la Importancia Medicinal de *Basella alba* L. *Revista Internacional de Ciencias Farmacéuticas y de Investigación de Drogas*, 110-114.
- Skoog D, W. D. (2005). *Fundamentos de Química Analítica, 8va Edición* . Mexico: Thomson Editorial.
- Spectrum Analytic Inc (2009). *Illustrated Guide to Sampling for Plant Analysis*
- Swanson. (2003). *Iron intake and regulation: Implications for Iron deficiency and Iron Overload*. E.E.U.U.
- TCA-INCAP (2012). *Tabla de Composición de Alimentos -Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá* segunda edición, pág.35
- V, S. M. (1996). *Agricultura Orgánica*. Ediciones UPC.

Willard H, M. L. (1991). *Método Instrumental de Análisis*. México: Grupo D.Iberoamericana.

Yamilé J. G, e. (2012). Cuantificación de Hierro Ferroso en Espinaca y Harina Fortificada: Una Aplicación para la Industria de Panificación. *Journl of Engineering and Technology*, 27-33.

Anexos



Anexo N° 1

Lote de Espinaca (*Basella alba*) No 1 del municipio de San Juan de Oriente.



Anexo N° 2

Lote de Espinaca (*Basella alba*) N° 2 del municipio de Catarina.



Anexo N° 3

Lote de Espinaca *Basella alba* N° 3 del municipio de Catarina.



Anexo N° 4.

Monitoreo de la producción de hojas de espinaca (*Basella alba*).

Con la ayuda de un balanza reloj (Balanza AMERICAN) Figura 4.1. Se monitorea el peso una vez a la semana por un mes de la producción de hojas de espinaca para obtener un promedio de cada lote de espinaca (Tabla 4.1).

Figura 4.1 Pesado de la producción de hojas de espinaca.



En la siguiente tabla se detallan los resultados de la producción semanal de hojas de espinaca para obtener un promedio de cada lote.

Tabla 4.1 Producción semanal de hojas de espinaca por un mes.

N° de lote	Semana	Peso en lb	Peso promedio
Lote N° 1	1	20 lb	15 lb
	2	15 lb	
	3	10 lb	
	4	15 lb	
Lote N° 2	1	7 lb	8 lb
	2	8 lb	
	3	6 lb	
	4	11 lb	
Lote N° 3	1	11 lb	10 lb
	2	12 lb	
	3	10 lb	
	4	8 lb	

Anexo N° 5

Cálculo para determinar el tamaño de la muestra en cada uno de los lotes.

Aplicando la ecuación para calcular la muestra de una población conocida se determinó el tamaño de muestra para cada lote.

$$n = \frac{Z^2 * p * q * N}{(N * e^2) + (Z^2 * p * q)}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

e = error de muestreo aceptable

Z = intervalo de confianza

p = proporción verdadera

q = 1 - p

N = tamaño de la población

1. Punto de muestreo San Juan de Oriente lote N° 1.

Producción semanal 15 lb

Conversión de lb a gramos: 1lb = 453.59 g

Población conocida: = 6,803.85.g

Aplicando la ecuación para determinar la muestra el resultado es de:

$$n = \frac{1.96^2 * 0.5 * 0.5 * 6,803.85 \text{ g}}{(6,803.85 \text{ g} * 0.05^2) + (1.96^2 * 0.5 * 0.5)}$$

Tamaño de la muestra para el primer lote: $n = 363.6292 \text{ g}$

2. Punto de muestreo Catarina lote N°2.

Producción semanal 8 lb

1 lb = 453.59 g

Población conocida = 3,628.72 g

$$n = \frac{1.96^2 * 0.5 * 0.5 * 3,628.72 \text{ g}}{(3,628.72 \text{ g} * 0.05^2) + (1.96^2 * 0.5 * 0.5)}$$

Tamaño de la muestra para el segundo lote: $n = 347.3836 \text{ g}$

3. Lugar de muestreo Catarina lote N° 3.

Producción semanal 10 lb

1lb = 453.59 g

Población conocida = 4,535.9 g

Aplicando la ecuación para determinar la muestra el resultado es de:

$$n = \frac{1.96^2 * 0.5 * 0.5 * 4,535.9 \text{ g}}{(4,535.9 \text{ g} * 0.05^2) + (1.96^2 * 0.5 * 0.5)}$$

Tamaño de la muestra para el segundo lote: $n = 354.1660 \text{ g}$

Anexo N° 6

El algoritmo de Euclides para dividir un rectángulo en varios cuadrados.

Nos interesa saber cuántos cuadrado se obtienen al dividir a un rectángulo, no importa el tamaño de estos si no el números que se obtiene de la división.

El **cociente entre la altura y el ancho** del rectángulo debe ser un número racional (de lo contrario no habría solución), o sea del tipo **a/b** donde a y b son naturales y primos entre sí (es necesario que sean primos entre sí para evitar infinitas dualidades; si no fueran primos entre sí se los simplifica hasta que lo sean). Para darle un nombre (arbitrario) a este cociente lo llamaremos la **razón del rectángulo**. El tamaño físico del rectángulo va a depender de un **factor de escala** dimensional. Si, por ejemplo, la razón del rectángulo es 174/65, y el factor de escala es 1 mm, entonces la altura del papel es $174 \times 1 \text{ mm} = 174 \text{ mm}$ y el ancho $65 \times 1 \text{ mm} = 65 \text{ mm}$.

Uno está tentado a buscar una fórmula más o menos sencilla que en función de **a** y **b** nos diga cuántos cuadrados tendremos finalmente (Tal como $1 + 2^2 + 3^2 + 4^2 + \dots + n^2 = 1/6 n + 1/2 n^2 + 1/3 n^3$).

No obstante la solución se puede encontrar a través de un algoritmo sencillo. Nos va a ayudar un caso concreto, por ejemplo cuando el cociente de la altura a la base es 174/65.

Primer paso: dividimos el número mayor por el menor, anotamos el resto y el cociente entero.


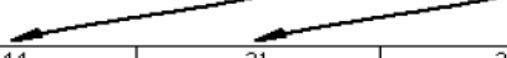
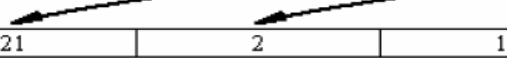
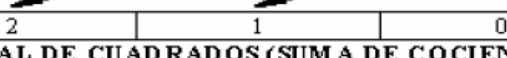
Número mayor 174 dividido por 65 da un resto de 44 y un resultado de 2

Segundo paso: reemplazamos los número originales (174 y 65) por el menor de estos números

y el resto recién obtenido. Dividimos uno por el otro, anotamos el resto y el resultado:

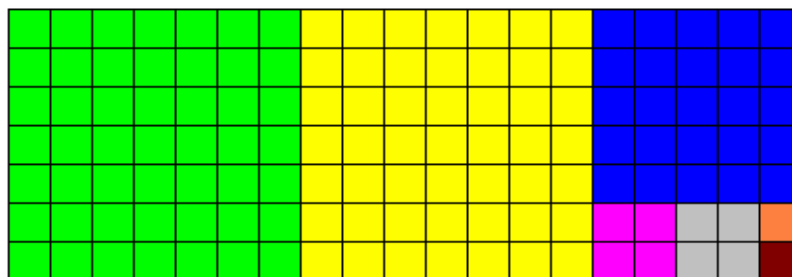
Número mayor 65 dividido por 44 da un resto de 21 y un resultado de 1

Tercer paso (y subsiguientes) volvemos a repetir el proceso hasta que el resto es 0. Puesto en una tabla tenemos:

DIVIDEND O	DIVISOR	RESTO	COCIENTE
174	65	44	2
			
65	44	21	1
			
44	21	2	2
			
21	2	1	10
			
2	1	0	2
TOTAL DE CUADRADOS (SUMA DE COCIENTES)			17

El total de cuadrados que se sacan es igual a la suma de los cocientes, que en este ejemplo es 17.

Veámoslo gráficamente para un caso más sencillo. Sea una razón del rectángulo igual a 19/7. Entonces tendremos:



DIVIDENDO	DIVISOR	RESTO	COCIENTE
19	7	5	2
7	5	2	1
5	2	1	2
2	1	0	2
TOTAL DE CUADROS (SUMA DE COCIENTES)			7

Un resultado adicional interesante es que a través de esta tabla se obtienen las dimensiones de los cuadrados. Cada cociente de esta tabla da el número de cuadrados cuyo lado es el divisor (Multiplicado por el factor de escala). Por ejemplo si el factor de escala fuera 1 cm.

Tendríamos:

2 cuadrados de 7 cm de lado

1 cuadrado de 5 cm de lado

2 cuadrados de 2 cm de lado

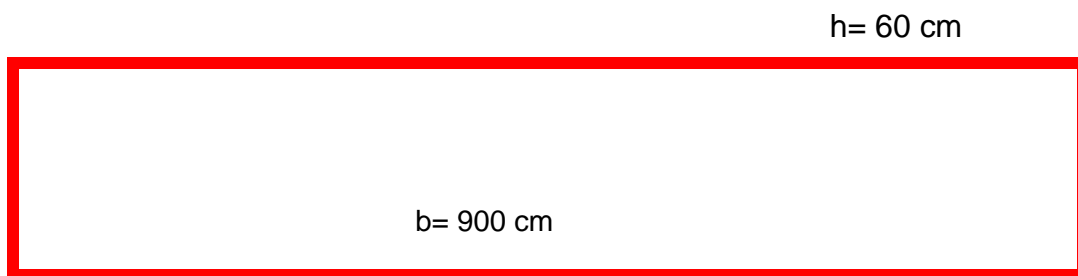
2 cuadrados de 1 cm de lado

Anexo N° 7

Cálculo del número de cuadrantes aplicando el algoritmo de Euclides a los tres lotes de espinacas.

Primer Lote con base de 900 cm y altura de 60 cm.

Lote de espinaca N°1



El área de esta malla está determinada por la siguiente ecuación

$$A = b \cdot h$$

$A = 60\text{cm} \cdot 900\text{cm}$, para el primer punto el área es $A = 54,000 \text{ cm}^2$

Aplicando el algoritmo de Euclides para el primera lote.

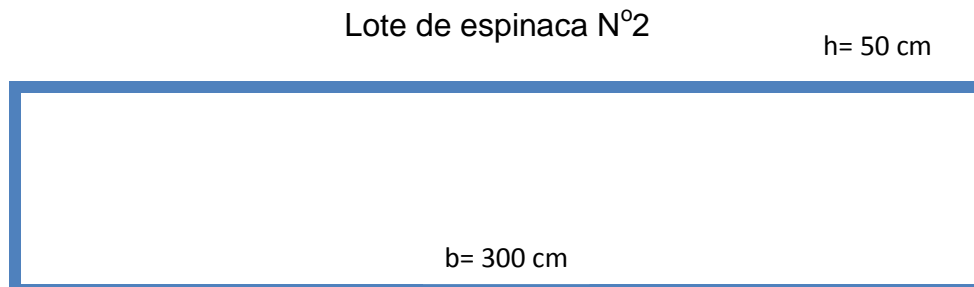
Dividendo	Divisor	Residuo	Cociente
900	60	0	15
Total de cuadrados (suma de cocientes)			15

Como el resultado de la división es de 15 cuadrantes de 60 cm de longitud a estos cuadrantes se le aplica un factor de escala de 0.5, quedando 30 cuadrantes de 30 cm de longitud.

Figura 7.1 Lote de espinaca N° 1 con sus cuadrantes debidamente calculados.



Segundo Lote con base de 300 cm y altura de 50cm.



El área de esta malla está determinada por la siguiente ecuación

$$A = b \cdot h$$

$$A = 50\text{cm} \cdot 300\text{cm}, \quad \text{para el segundo punto el área es } A = 1500 \text{ cm}^2$$

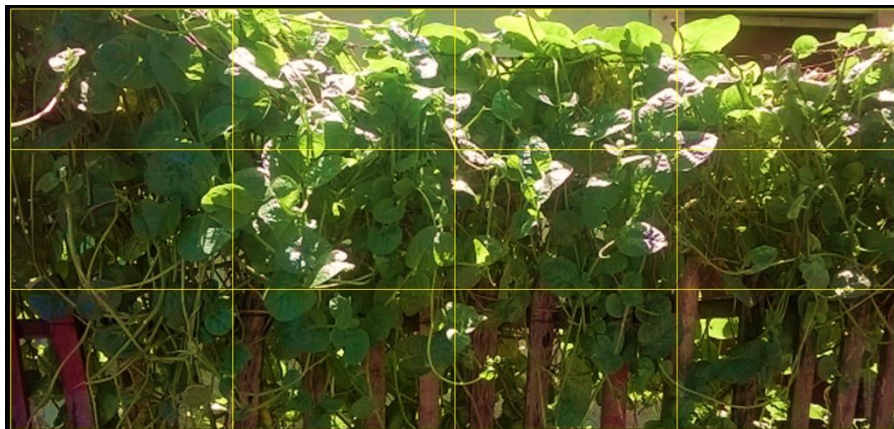
Aplicando el algoritmo de Euclides para la segunda malla.

A todos aquellos cuadrantes que den como resultado un tamaño mayor que 30 cm de longitud se le aplicara un factor de escala 0.5.

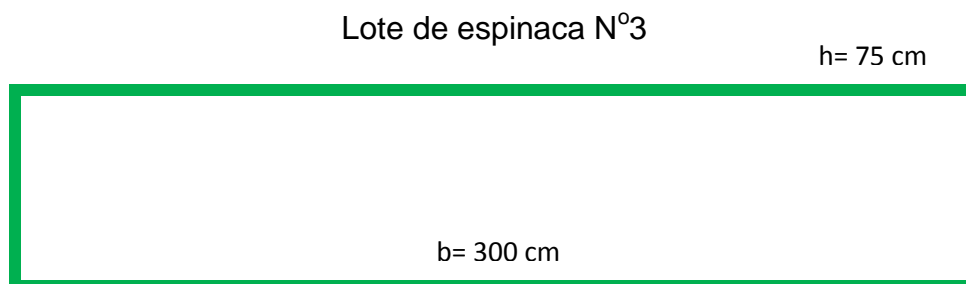
Dividendo	Divisor	Residuo	Cociente
300	50	0	6
Total de cuadrados (suma de cocientes)			6

Como el resultado de la división fue de 6 cuadrantes de 50 cm de longitud a estos cuadrantes se le aplicó un factor de escala de 0.5, quedando 12 cuadrantes de 25 cm de longitud.

Figura 7.2 Lote de espinaca N° 2 con sus cuadrantes debidamente calculados.



Tercer Lote con base de 300 cm y altura de 75cm.



El área de esta malla está determinada por la siguiente ecuación:

$$A = b \cdot h$$

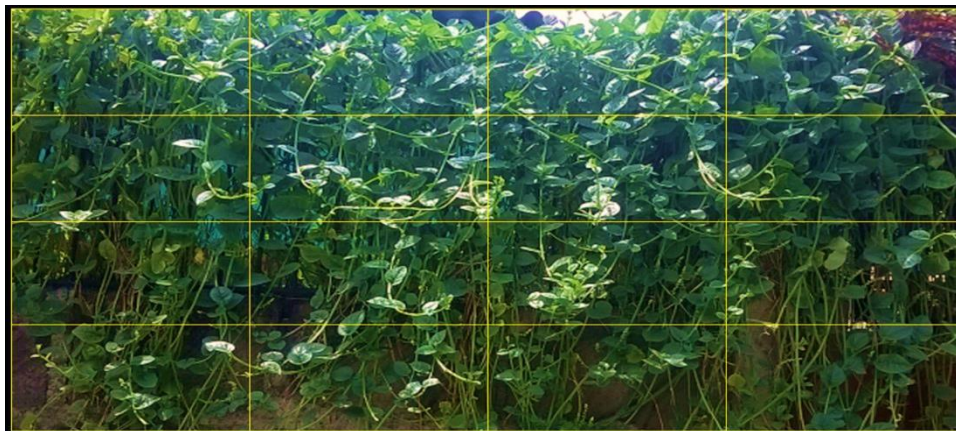
$$A = 75\text{cm} \cdot 300\text{cm}, \quad \text{para el primer punto el área es } A = 22,500\text{cm}^2$$

Aplicando el algoritmo de Euclides a la Tercera malla.

Dividendo	Divisor	Residuo	Cociente
300	75	0	4
Total de cuadrados (suma de cocientes)			4

Como el resultado de la división fue de 4 cuadrantes de 75 cm de longitud a estos cuadrantes se les aplicó un factor de escala de 0.5 dos veces, quedando 16 cuadrantes de 18.75 cm de longitud.

Figura 7.3 Lote de espinaca N° 3 con sus cuadrantes debidamente calculados.



Anexo N° 8 Hoja de muestreo utilizada en cada lote de espinaca (*Basella alba*).

 <p style="text-align: center;"> Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Recinto Universitario Rubén Darío Facultad de Ciencias e Ingeniería Departamento de Química Hoja de muestreo para las hojas de Espinaca </p>				
Datos Generales				
Nombre común: Espinaca		Nombre del Muestreador <input type="text"/>		
Nombre científico <i>Basella alba</i>		Fecha: <input type="text"/>		
Lugar de monitoreo: <input type="text"/>		Hora: <input type="text"/>		
Coordenadas del sitio: <input type="text"/>				
Transporte de la Muestra.		Criterios de aceptación		
Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos (LAFQA)		Hojas adulta <input type="text"/>		
UNAN-Managua <input type="text"/>		Sin picadura de insecto <input type="text"/>		
		Sin plagas <input type="text"/>		
Condiciones Climáticas y Edáficas				
Temperatura Ambiental (°C) : <input type="text"/> Altitud : <input type="text"/> Precipitaciones: Si <input type="text"/>				
Latitud: <input type="text"/> No <input type="text"/>				
Envase y Preservación de la Muestra				
Parámetro de análisis	Tipo de envase	Peso de la muestra (g)	Preservación Física	Preservación Química
Hierro Total: [Fe]	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Observaciones				

Anexo N° 9

Ejemplo de llenado de la hoja de muestreo.

 Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Recinto Universitario Rubén Darío Facultad de Ciencias e Ingeniería Departamento de Química Hoja de muestreo para las hojas de Espinaca Datos Generales				
Nombre común: Espinaca		Nombre del Muestreador Yader López		
Nombre científico Basella alba		Fecha: 10/05/15		
Lugar de monitoreo: San Juan de Oriente		Hora: 5:00 pm		
Coordenadas del sitio: 11.905249 - 86.573377				
Transporte de la Muestra.		Criterios de aceptación		
Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos (LAFQA)		Hojas adulta <input checked="" type="checkbox"/>		
UNAN-Managua <input checked="" type="checkbox"/>		Sin picadura de insecto <input checked="" type="checkbox"/>		
		Sin plagas <input checked="" type="checkbox"/>		
Condiciones Climáticas y Edáficas				
Temperatura Ambiental (°C): 30		Altitud: 11.905249		Precipitaciones: Si <input type="checkbox"/>
Latitud: 86.573377				No <input checked="" type="checkbox"/>
Envase y Preservación de la Muestra				
Parámetro de análisis	Tipo de envase	Peso de la muestra (g)	Preservación Física	Preservación Química
Hierro Total:(Fe)	Bolsas de Papel	600g	—	—
Observaciones				

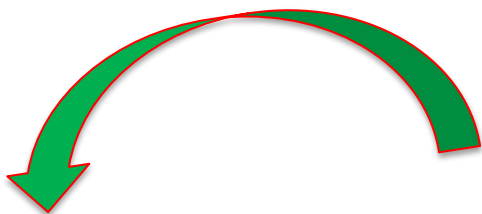
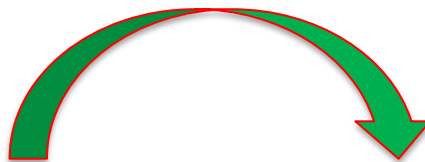
Anexo N° 10

Etiqueta para el almacenamiento de las hojas de espinaca (*Basella alba*) *in situ*.

<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA RECINTO UNIVERCITARIO RUBÉN DARÍO FACULTA DE CIENCIAS E INGENIERIAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FICHA DE REGISTRO</p>	
Nombre de la planta:	Fecha:
Lugar de muestreo:	
Hora:	Código:
Peso(g):	
Temperatura de almacenamiento:	

Anexo N° 11

Procedimiento de muestreo *in situ*.



Anexo N° 12

Almacenamiento de las muestras.



Anexo N° 13

Cálculos de la metodología experimental según la sección 4.6.3.3.

a. orto-fenantrolina 0.1%.

Disolver 0.1 g de 1,10 - fenantrolina• H₂O en 80 mL de H₂O destilada a 80°C, dejar enfriar y diluir a 100mL. Se guardó en un frasco de vidrio color ámbar bajo refrigeración. La solución es estable durante varias semanas. Desechar si la solución se vuelve ligeramente rosado, lo que indica que se ha contaminado con hierro.

$$\% m/v = \frac{g \text{ disolución}}{mL \text{ solución}} \times 100 \%$$

$$m = \frac{\% \frac{m}{v} \times Vol(L)}{100} = \frac{(0.1 \% \frac{m}{v})(100 mL)}{100}$$

$$m = 0.1 \text{ g de orto - fenantrolina}$$

b. Solución buffer de acetato.

Disolver 8.3 g de acetato anhidro CH₃COONa (previamente secado a 100°C) en agua, luego se agregó 12 mL de ácido acético y se diluyó a 100 mL.

$$m = \frac{\text{masa } g}{P.M \times Vol(L)}$$

$$m = \frac{8.3 \text{ g}}{82.03378998 \text{ g/mol} \times 1L} = 1.012 \text{ M}$$

$$m = PM \times Vol \times M$$

$$m = (82.03378998 \text{ g/mol})(1.0 L)(1.012 \text{ mol/L})$$

$$m = 8.3018195 \text{ g } CH_3COONa$$

c. Clorhidrato de hidroxilamina - 10 % (m/v)

Añadir 10 g de clorhidrato de hidroxilamina en un vaso de precipitados, y disolver con 100 mL de agua destilada con la ayuda de una varilla de vidrio.

$$\% m/v = \frac{g \text{ disolución}}{mL \text{ solución}} \times 100 \%$$

$$m = \frac{\% \frac{m}{V} \times V(L)}{100} = \frac{(10 \% \frac{m}{V})(100 \text{ mL})}{100}$$

$$m = 10 \text{ g de Clorhidrato de hidroxilamina}$$

d.1. Solución estándar de reserva de hierro, 500 ppm. Se pesa con exactitud 0.8777 g de sulfato amónico ferroso, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y se disuelve en agua destilada, se añade 2 gotas de HCl concentrado y se diluye a 250 mL.

$$m = 500_{\text{mg Fe/L}} \times \frac{1 \text{ mol sal mohl}}{1 \text{ mol Fe}} \times \frac{392.14 \text{ g sal}}{1 \text{ mol sal mohl}} \times \frac{1 \text{ mol Fe}}{55.845 \text{ g Fe}} \times \frac{1 \text{ g Fe}}{1000 \text{ mg Fe}} \times \frac{0.250}{L}$$

$$m = 0.87774196 \cong 0.8777 \text{ g de sal de mohl}$$

d.2. Solución estándar primaria de hierro - 1000 mg/L.

Disolver 3.5120 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada, y se añadió 2 gotas de HCl concentrado. Se diluye hasta 500 mL en un matraz aforado. Se transfiere la solución a un frasco color ámbar.

$$m = 1000_{\text{mg Fe/L}} \times \frac{1 \text{ mol sal mohl}}{1 \text{ mol Fe}} \times \frac{392.14 \text{ g sal}}{1 \text{ mol sal mohl}} \times \frac{1 \text{ mol Fe}}{55.845 \text{ g Fe}} \times \frac{1 \text{ g Fe}}{1000 \text{ mg Fe}} \times \frac{0.500}{L}$$

$$m = 3.511967857 \cong 3.512 \text{ g de sal de mohl}$$

d.3. Solución Estándar secundaria de hierro 10 mg/L.

En un matraz aforado de 500 mL, se pipetea 5 ml de la solución patrón primaria (1000 mg / L). También se añade 2 mL de HCl concentrado. Luego se llena con agua destilada hasta la marca de aforo

$$C_1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = ?$$

$$V_1 = \frac{10 \times 500}{1000} = 5 \text{ mL}$$

$$C_2 = 10 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 500 \text{ mL}$$

e. Solución coadyuvante de calcinación.

Se prepara una solución de acetato de magnesio en alcohol etílico, 0.015:1 (m/v), se disuelve 3 g de $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en alcohol etílico al 95 % (v/v) y se afora en un matraz volumétrico clase A Pyrex de 200 mL.

e.1)

$$\% m/v = \frac{g \text{ disolución}}{mL \text{ solución}} \times 100 \%$$

$$= \frac{3 \text{ g acetato de magnesio}}{200 \text{ mL}} = 0.015 \% (m/v)$$

e.2) Disolución del alcohol etílico del 99% al 95% para la solución de acetato de magnesio.

$$C_1 = 95\%$$

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = 200 \text{ ml}$$

$$C_2 = 99. \%$$

$$V_2 = \frac{95 \times 200}{99} = 192 \text{ mL}$$

$$V_2 =$$

Anexo N° 14

Ensayo preliminar en la selección de la longitud de onda (λ) de máxima absorbancia en el espectrofotómetro UV/Visible Perkin Elmer Lambda por medio de la metodología de la sección 4.6.3.3.

Se programa el espectrofotómetro a cinco diferentes longitudes de onda con el fin de conocer la longitud de onda de máxima absorbancia por medio de la lectura de 11 soluciones preparadas según la metodología de la sección 4.6.3.3.

La Tabla 13.1 reúne las absorbancias promedio de cada longitud de onda de las soluciones con pH ajustado en el intervalo 3-4, donde se observa que el estándar 3.01 presenta la máxima absorbancia a 511 nm.

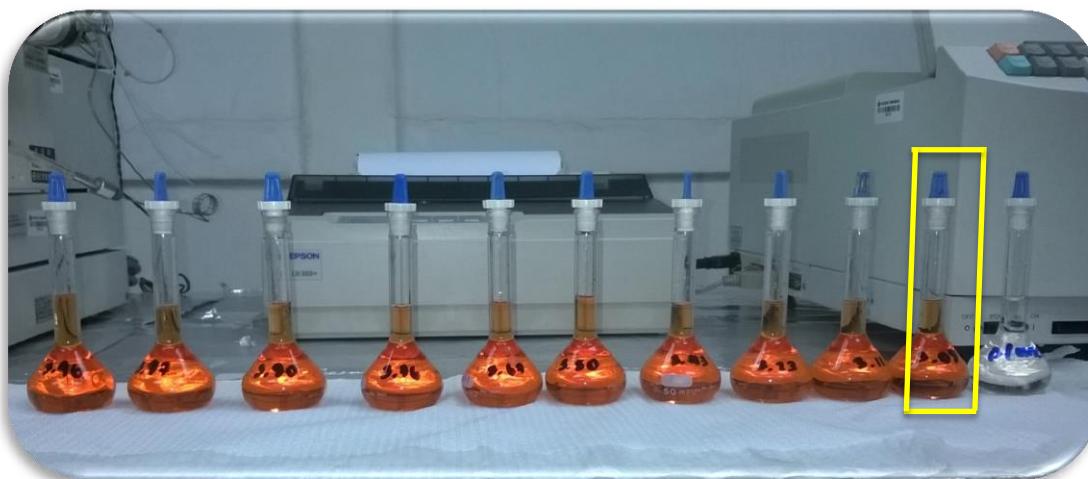
Tabla 13.1 Ensayo previo para la determinación de la longitud de onda de máxima absorción y Comprobación de la influencia del pH en el medio de reacción donde ocurre la formación del complejo ferroína.

Etiqueta	Vol.[ml]	pH Teórico	PH Ajustado	Diferentes longitud de onda (λ)				
				509	509.5	510	510.5	511
				Absorbancia Promedio por solución				
Soln. 0.0	0.00	3.50	3.55	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023
Soln. 0.1	5.00	3.00	3.01	0.986	0.987	0.987	0.987	0.988
Soln. 0.2	5.00	3.10	3.09	0.973	0.973	0.974	0.973	0.975
Soln.0.3	5.00	3.20	3.22	0.969	0.970	0.970	0.971	0.970
Soln.0.4	5.00	3.40	3.46	0.965	0.966	0.966	0.967	0.966
Soln. 0.5	5.00	3.50	3.48	0.976	0.977	0.977	0.977	0.977
Soln. 0.6	5.00	3.60	3.63	0.970	0.971	0.972	0.971	0.971
Soln. 0.7	5.00	3.70	3.73	0.975	0.976	0.976	0.977	0.976
Soln.0.8	5.00	3.80	3.78	0.970	0.970	0.971	0.971	0.971
Soln. 0.9	5.00	3.90	3.87	0.978	0.978	0.979	0.980	0.979
Soln.10	5.00	4.00	3.96	0.975	0.975	0.975	0.976	0.975

Anexo N° 15

Ilustración de la metodología experimental según de la sección 4.6.3.3

En la siguiente imagen se muestra las 11 soluciones las cuales se ajustan a un pH dentro de los intervalos 3 a 4 con aumento de una unidad. El blanco es el primer estándar que se ubica de derecha a izquierda. El estándar 3.01 es el que obtuvo la mayor absorbancia a 511nm (enmarcado en amarillo).



Anexo N° 16

Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.4

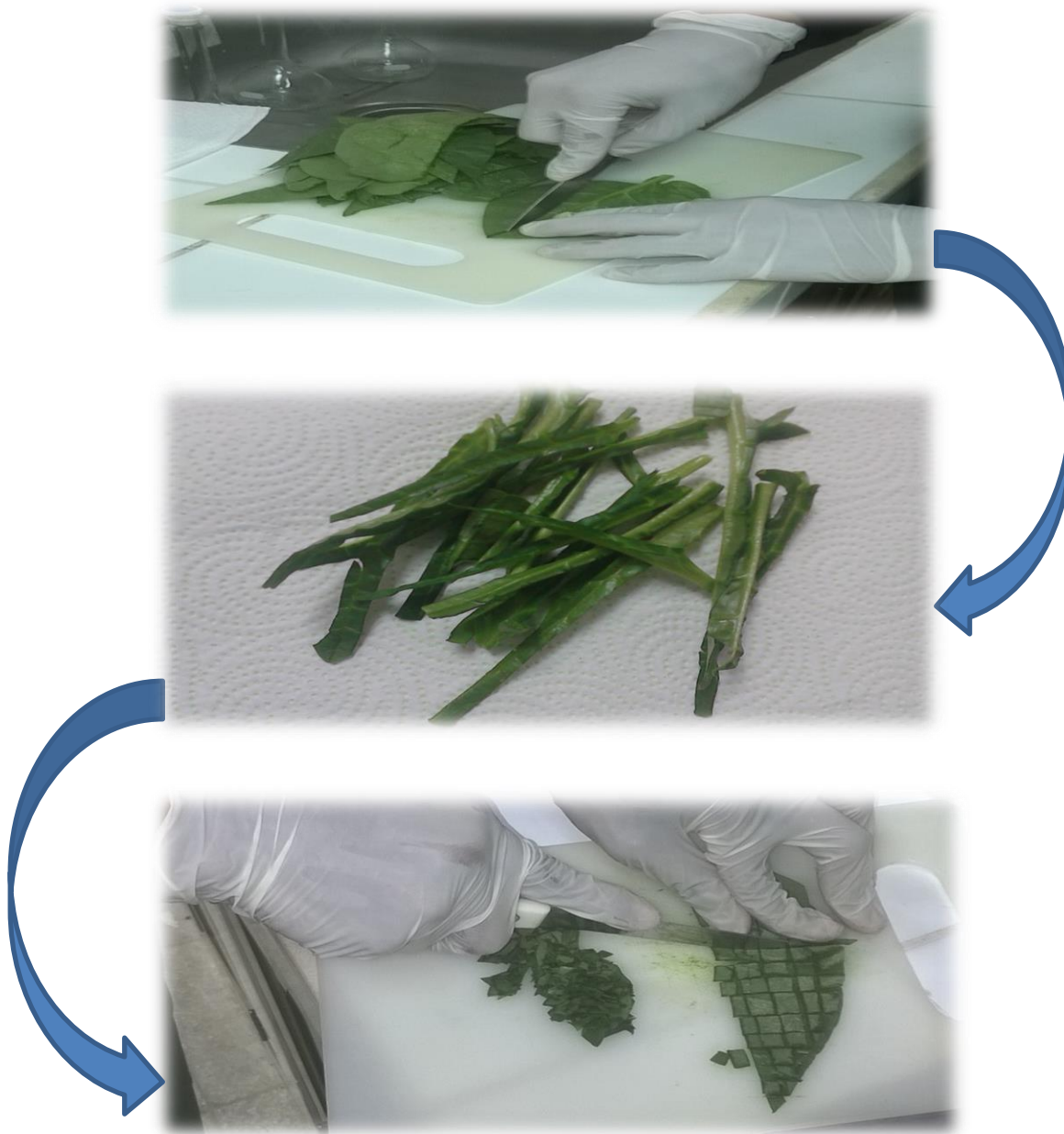
Los 16 matraces de 100 mL corresponden a los 8 estándares de hierro por duplicado: 0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 ppm (de derecha a izquierda) que se utilizan en la lectura del espectrofotómetro para la elaboración de la curva de calibración.



Anexo N° 17

Ilustración de la preparación de la muestra de análisis.

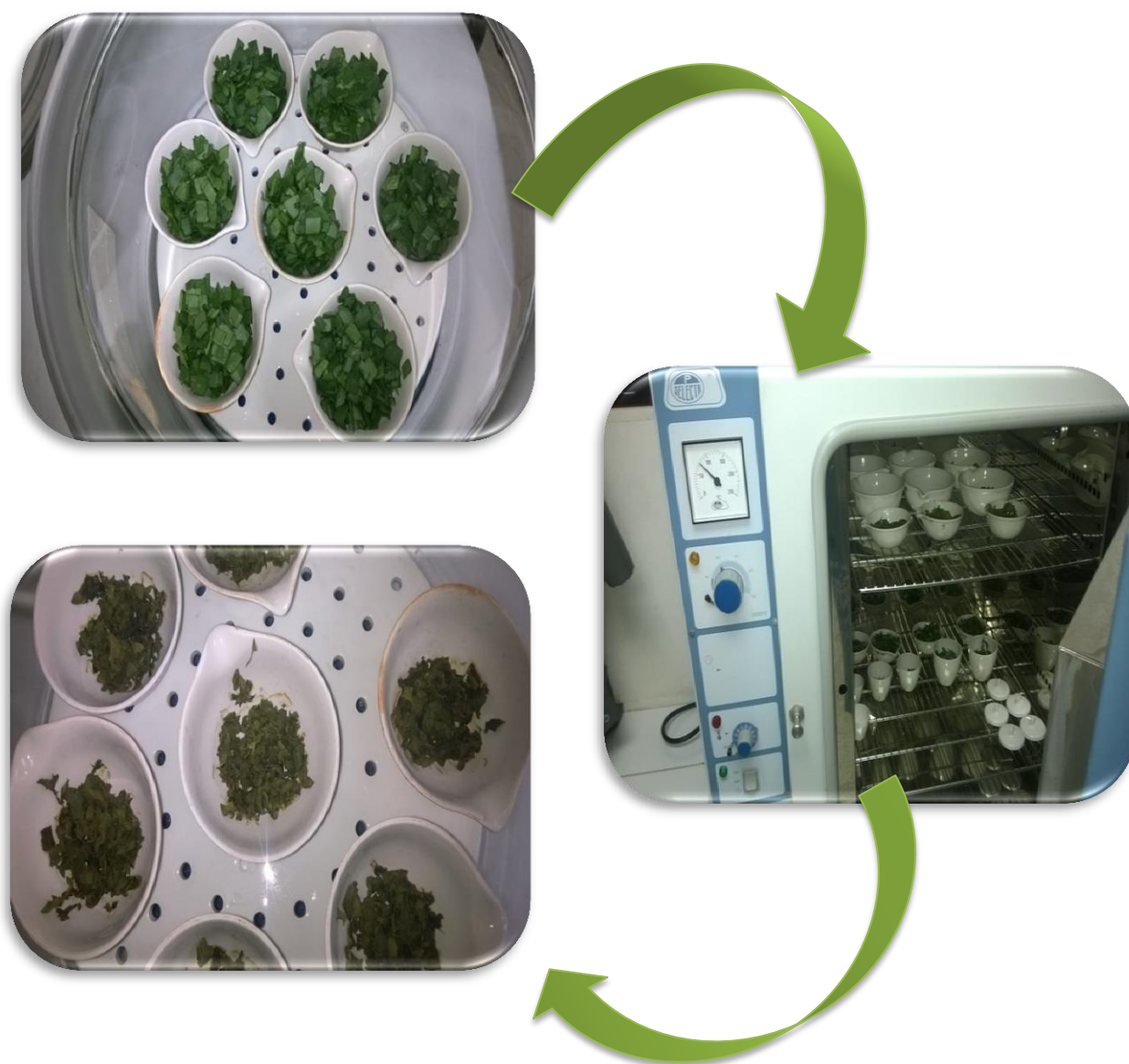
En las siguientes imágenes se muestra el proceso de preparación de la muestra tomado a partir de la encuesta. Cabe destacar que en este proceso se eliminó la masa falsa es decir los peciolo de cada hoja.



Anexo N° 18

Ilustración del proceso de secado de la muestra "*Basella alba*"

Después de la preparación de la muestra se procede a pesar aproximadamente 15 g en las cápsulas de porcelanas, posteriormente se colocan en la estufa de convección a 80° C durante 24 h, hasta obtener el residuo seco de la muestra.



Anexo N° 19

Ilustración de la metodología experimental según la sección 4.6.3.7.

Obtenido el extracto seco de la muestra se procede a homogenizar el extracto con la ayuda de un mortero y el pilón hasta obtener un residuo seco completamente homogenizado.



Anexo N° 20

Muestra Control tratada igual que las muestras de análisis.

Nutrition Facts

Serving Size:

Amount Per Serving	Undrained 1/2 Cup	Drained 1/3 Cup
Calories	30	20
Calories from Fat	0	0
% Daily Value**		
Total Fat 0g*	0%	0%
Saturated Fat 0g	0%	0%
Trans Fat 0g		
Cholesterol 0mg	0%	0%
Sodium 310mg***	13%	9%
Potassium 490mg	14%	8%
Total Carbohydrate 4g	1%	1%
Dietary Fiber 4g	16%	12%
Sugars 0g		
Protein 3g		
Vitamin A	100%	100%
Vitamin C	8%	4%
Calcium	15%	10%
Iron	15%	10%



Tabla 20.1 Composición Química de la espinaca enlatada.

Nutrientes	Unidad	Valores 100 g	1 copa = 234.0g
Proximales			
Agua	g	93.22	218.13
Energía	kcal	19	44
Proteína	g	2.11	4.94
Lípidos Totales	g	0.37	0.87
Carbohidratos Totales	g	2.92	6.83
Fibra total	g	1.6	3.7
Cenizas Totales	g	1.38	2.5
Minerales			
Calcio, Ca	mg	83	194
Hierro, Fe	mg	1.58	3.7
Magnesio, Mg	mg	56	131
Fosforo, P	mg	32	75
Potasio, K	mg	230	538
Sodio, Na	mg	319	746
Zinc, Zn	mg	0.42	0.98
Vitaminas			
Vitamina C, ácido ascórbico	mg	13.5	31.6
Tiamina	mg	0.018	0.042
Riboflavina	mg	0.106	0.248
Niacina	mg	0.271	0.634
Vitamina B-6	mg	0.08	0.187
Folato.	µg	58	136
Vitamina A.	µg	322	753
Vitamina A, IU	IU	6432	15051
Lípidos Totales			
Ácidos grasos, Saturados	g	0.06	0.14
Ácidos grasos, Mono saturado	g	0.01	0.023
Ácidos grasos, Poliinsaturados	g	0.155	0.363
Colesterol	mg	0	0

Fuente: USDA National Nutrient Data base for Standard Reference.

Anexo N° 21

Ilustración de la metodología según la sección 4.6.3.8.

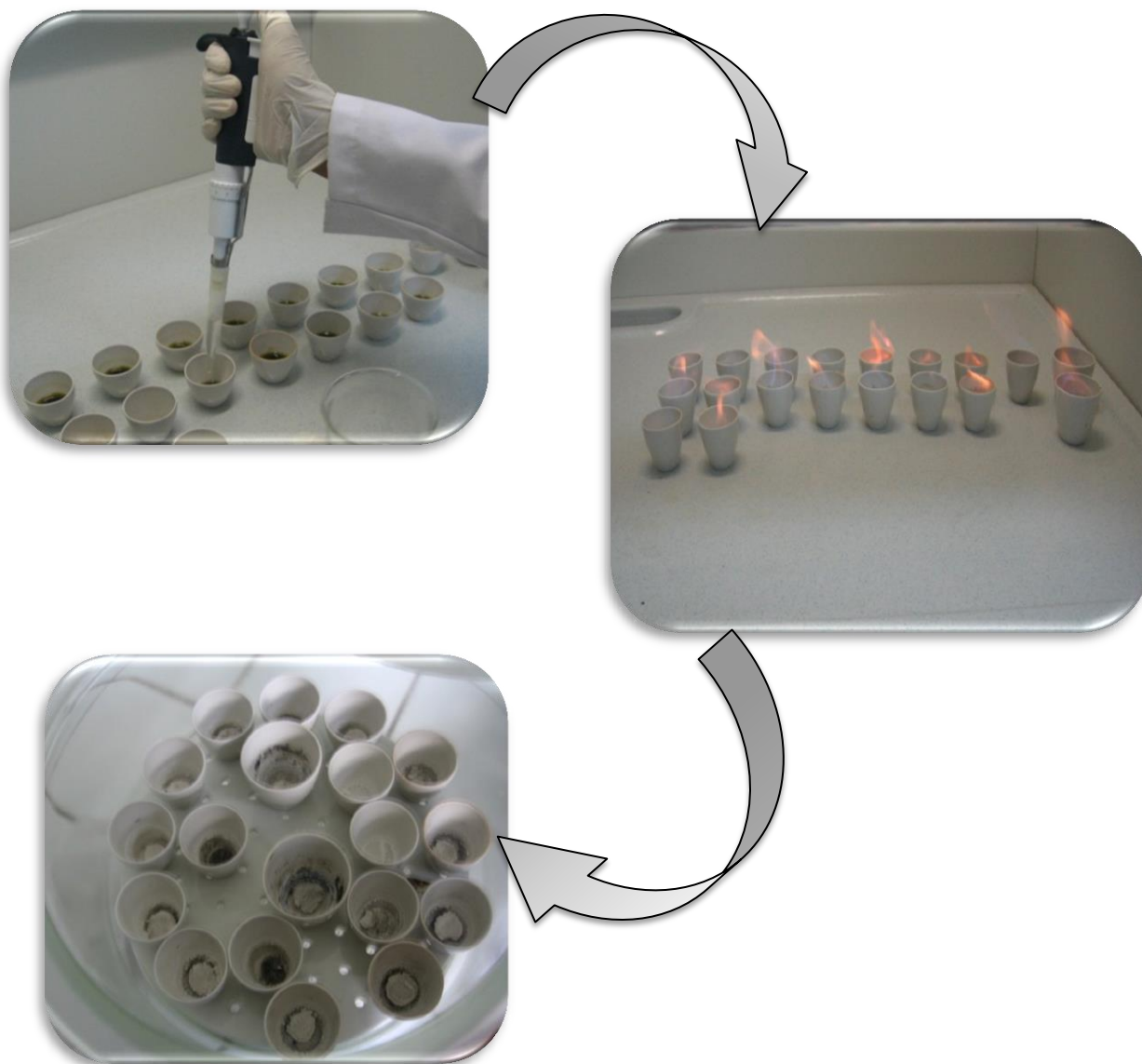
Procesador de alimentos que se utiliza para homogenizar la espinaca enlatada que se emplea como muestra control.



Anexo N° 22

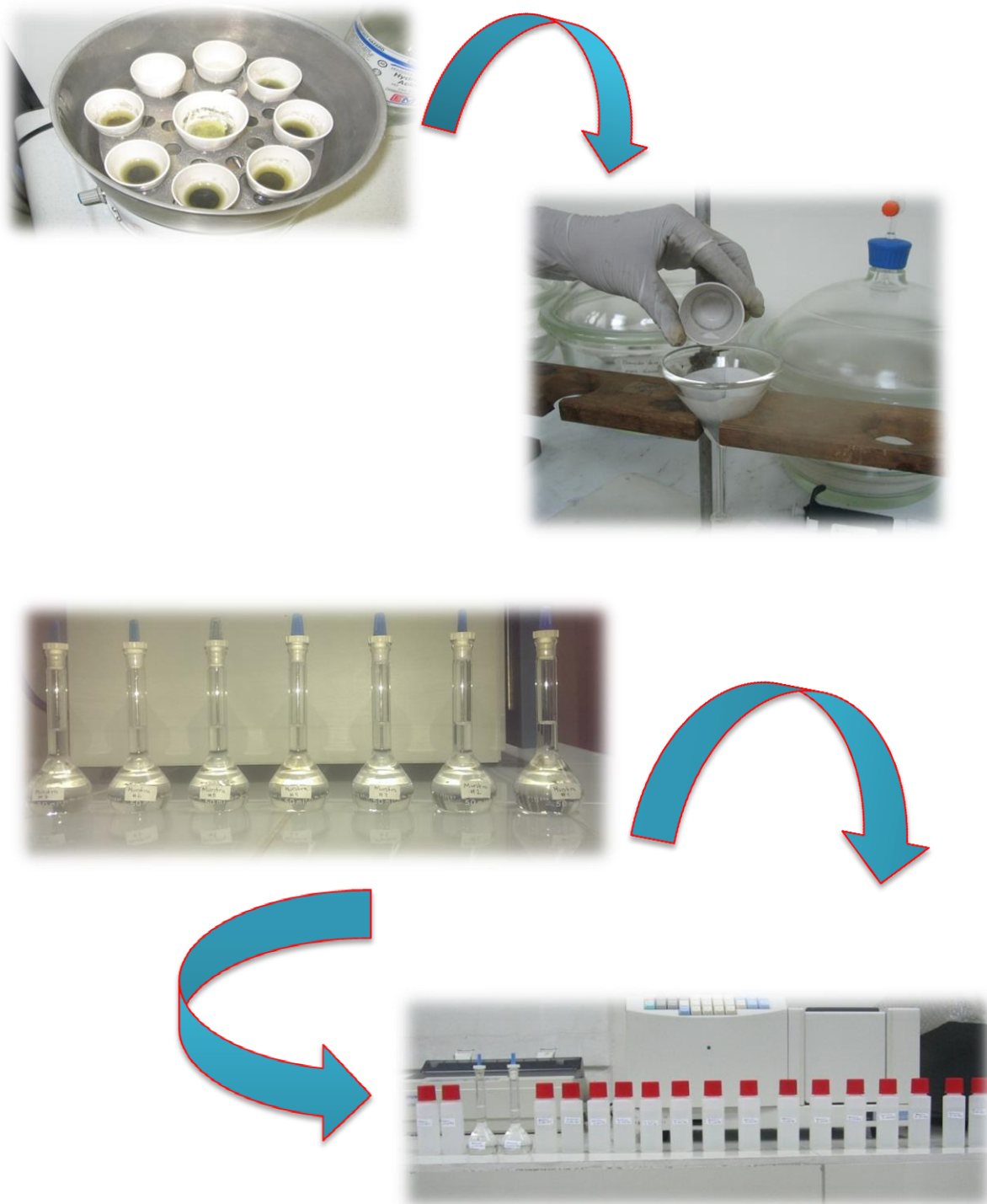
Ilustración según la metodología experimental de la sección 4.6.3.9.

A cada muestra homogenizada se agrega una solución coadyuvante de calcinación la cual se procede a quemar hasta que termina el proceso de combustión con el objetivo de acelerar el proceso de calcinación. Posteriormente se procede a colocar cada muestra en el horno mufla durante 5 horas hasta obtener las cenizas totales.



Anexo N° 23

Ilustración según la metodología experimental de la sección 4.6.3.10.



Anexo N° 24

Ilustración de la fase experimental según la sección 4.6.3.11.

Aplicación del método colorimétrico de la orto-fenantrolina a las muestras digeridas de las cenizas, muestras controles y blancos de análisis. Para los blancos y muestras controles se toma una alícuota de 15 mL y para las muestras de espinaca se mide una alícuota de 10 mL. De derecha a izquierda se encuentran blancos por duplicado, luego las muestras controles también por duplicado (enmarcadas en verde) y finalmente 15 muestras de espinaca.



Anexo N°25

Hoja de encuesta acerca de la planta de espinaca



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua
Recinto Universitario Rubén Darío
Facultad de Ciencias e Ingenierías
Departamento de Química

El objetivo de esta encuesta es que usted nos ayude a responder las preguntas que se le realizarán, ya que su colaboración será de mucha importancia para la realización de nuestros análisis con el fin de obtener resultados satisfactorios que les servirán en un futuro para incluir la espinaca en su dieta diaria.

Datos Generales del encuestado:

1- Sexo: F ☐ M ☐

2- ¿Conoce usted la espinaca?

SI ☐ NO ☐

Datos específicos para la selección de la matriz de análisis

3- ¿Qué consume las hojas o el fruto?

a).Hojas ☐ b).Fruto ☐ c).Ambos ☐

4- ¿Cómo prepara las hojas?

5- ¿Cómo prepara el fruto?

6- ¿Con que propósitos medicinales utiliza usted la espinaca?

- | | | |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| a) Como cicatrizante | <input type="checkbox"/> | e) Para tratamiento de la |
| b) Para tratar la depresión | <input type="checkbox"/> | hipertensión <input type="checkbox"/> |
| c) Para tratamiento de la anemia | <input type="checkbox"/> | |
| d) Para el estreñimiento | <input type="checkbox"/> | |

Anexo N° 26

Mapa de Nicaragua donde se marcan aquellos Departamentos encuestados.



Fuente: Elaborado por Martin Machado en Photoshop Extended CS6.

Anexo N° 27

Ejemplo de llenado de la encuesta.



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua
Recinto Universitario Rubén Darío
Facultad de Ciencias e Ingenierías
Departamento de Química

HOJA DE ENCUESTA ACERCA DE LA PLANTA DE ESPINACA

El objetivo de esta encuesta es que usted nos ayude a responder las preguntas que se le realizarán, ya que su colaboración será de mucha importancia para la realización de nuestros análisis con el fin de obtener resultados satisfactorios que les servirán en un futuro para incluir la espinaca en su dieta diaria.

Datos Generales del encuestado:

1- Sexo: F ☐ M ☒

2- ¿Conoce usted la espinaca?

SI ☒ NO ☐

Datos específicos para la selección de la matriz de análisis

3- ¿Qué consume las hojas o el fruto?

a).Hojas ☒ b).Fruto ☐ c).Ambos ☐

4- ¿Cómo prepara las hojas?

Las hace en trocitos y luego la agrega en el arroz como condimento

5- ¿Cómo prepara el fruto?

6- ¿Con que propósitos medicinales utiliza usted la espinaca?

a) Como cicatrizante	<input type="checkbox"/>	e) Para tratamiento de la	
b) Para tratar la depresión	<input type="checkbox"/>	Hipertensión	<input type="checkbox"/>
c) Para tratamiento de la anemia	<input checked="" type="checkbox"/>		
d) Para el estreñimiento	<input type="checkbox"/>		



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua

Recinto Universitario Rubén Darío

Facultad de Ciencias e Ingenierías

Departamento de Química

HOJA DE ENCUESTA ACERCA DE LA PLANTA DE ESPINACA

El objetivo de esta encuesta es que usted nos ayude a responder las preguntas que se le realizarán, ya que su colaboración será de mucha importancia para la realización de nuestros análisis con el fin de obtener resultados satisfactorios que les servirán en un futuro para incluir la espinaca en su dieta diaria.

Datos Generales del encuestado:

1- Sexo: F ☒ M ☐

2- ¿Conoce usted la espinaca?

SI ☒ NO ☐

Datos específicos para la selección de la matriz de análisis

3- ¿Qué consume las hojas o el fruto?

a).Hojas ☒ b).Fruto ☐ c).Ambos ☐

4- ¿Cómo prepara las hojas?

Y Las hacen en trocitos y luego la agregan en huevo
y la baten para preparar tortitas de huevo.

5- ¿Cómo prepara el fruto?

6- ¿Con que propósitos medicinales utiliza usted la espinaca?

a) Como cicatrizante	<input type="checkbox"/>	e) Para tratamiento de la	<input type="checkbox"/>
b) Para tratar la depresión	<input type="checkbox"/>	Hipertensión	<input type="checkbox"/>
c) Para tratamiento de la anemia	<input checked="" type="checkbox"/>		
d) Para el estreñimiento	<input type="checkbox"/>		

Anexo N° 28

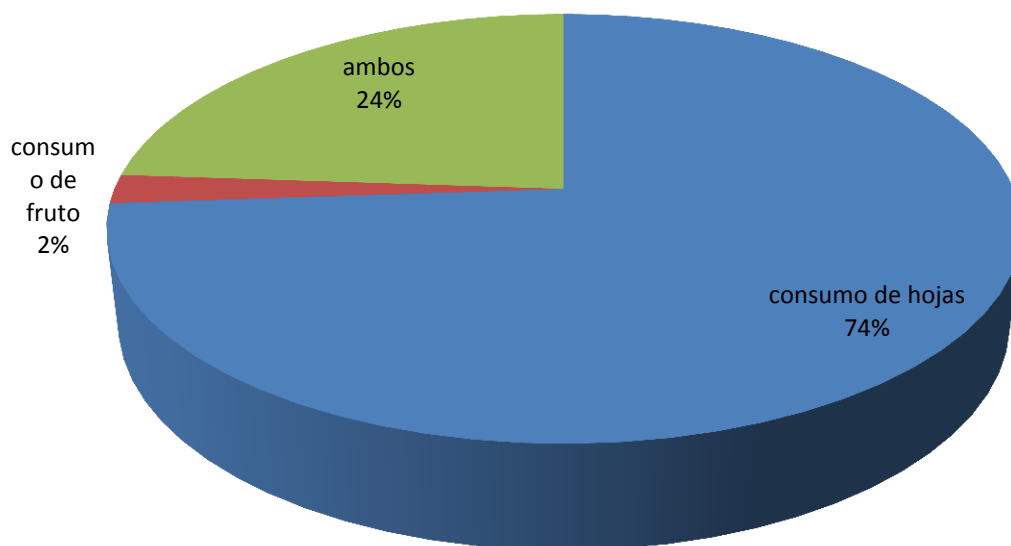
Resultados de la encuesta acerca de la planta de espinaca.

Tabla 28.1 Resultados de la pregunta N° 3

Consumo de hojas	34
Consumo de fruto	1
Ambos	11

Fuente: Encuesta.

Gráfico 28.1 Representación gráfica de los resultados de la pregunta No.3



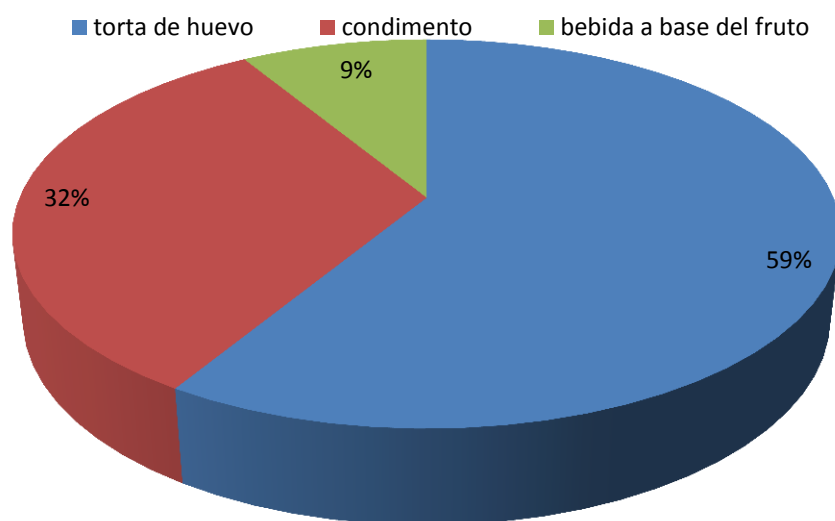
Fuente: Tabla 28.1

Tabla 28.2 Resultados de la pregunta N° 4

Torta de huevo	27
Condimento	15
Bebida a base del fruto	4

Fuente: Encuesta.

Gráfico 28.2 Representación gráfica de los resultados de la pregunta N° 4



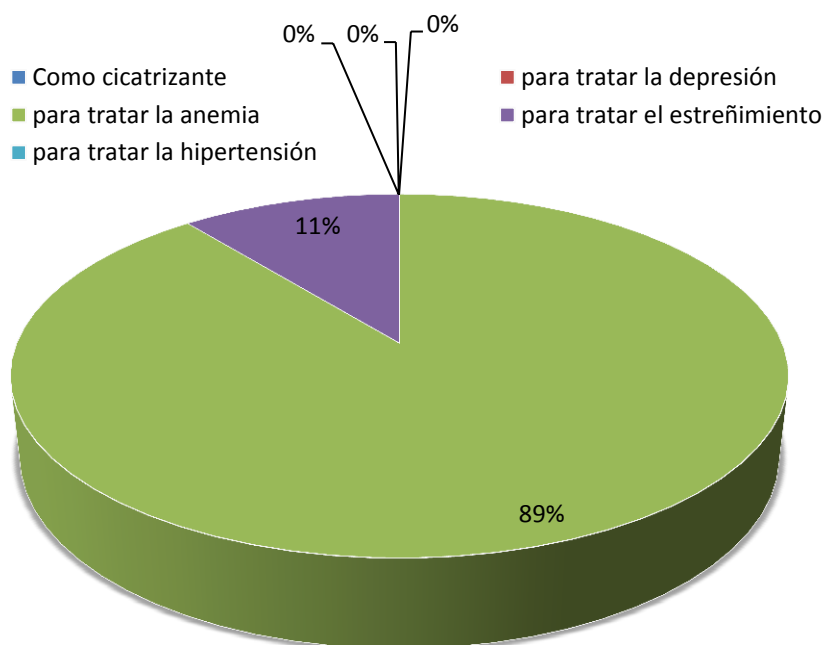
Fuente: Tabla 28.2

Tabla 28.3 Resultados de la pregunta N° 6.

Como cicatrizante	0
para tratar la depresión	0
para tratar la anemia	41
para tratar el estreñimiento	5
para tratar la hipertensión	0

Fuente: Encuesta.

Gráfico 28.3 Representación gráfica de los resultados de la pregunta N° 6.



Fuente: Tabla 28.3

Análisis de los resultados de la encuesta acerca de la planta de espinaca.

De acuerdo al consumo de las partes de la espinaca por la población Nicaragüense los datos obtenidos se presentan en la Tabla 28.1 y Gráfico 28.1. En ambas fuentes se observa que el mayor porcentaje de consumo se encuentra en las hojas con un 74%, el menor porcentaje se encuentra en el fruto con un 2% y con un porcentaje intermedio dentro de estos datos se encuentra la opción ambos con un 24%.

En relación al uso de los diferentes preparados alimenticios a base de hojas de espinaca los datos obtenidos en la Tabla 28.2 y Gráfico 28.2 indican que el mayor uso que se le da es preparándolo en torta de huevo con un 59%, seguido de un 32% utilizado como condimento y un 9% como bebida a base de fruto.

Con respecto a los propósitos medicinales que se presenta a la población los datos obtenidos en la Tabla 28.3 y Gráfico 28.3 fueron los siguientes; el 89% para el tratamiento de la anemia siendo este el de mayor porcentaje y un 11% como menor porcentaje para el estreñimiento. Cabe resaltar que las demás propiedades no presentaron ningún resultado.

Anexo N° 29

Tabla de t student para dos colas.

Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de $ t $ para valores de P de número de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
	0.10	0.05	0.02	0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de $|t|$ son adecuados para un contraste de *dos colas*. Para un contraste de *una cola* el valor se toma de la columna para *dos veces* el valor de P deseado, es decir, para un contraste de una cola, $P = 0.05$, 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual a 2.02.

Fuente: Miller y Miller (apéndice 2)

Anexo N° 30

Hoja de cálculo elaborada con los estadísticos asociados en la regresión de la mejor curva de calibrado del gráfico 5.4.1								
Estándares	Fe (mg/L)	Absorbancia	$(xi)^2$	$(xi-\bar{x})$	$(xi-\bar{x})^2$	\hat{y}	$yi - \hat{y}$	$(yi - \hat{y})^2$
1	0.00	0.034	0.00	-1.525	2.325625	0.035739	-0.001739	3.02412E-06
2	0.00	0.040	0.00	-1.525	2.325625	0.035739	0.004261	1.81561E-05
3	0.20	0.077	0.04	-1.325	1.755625	0.075216	0.001784	3.18323E-06
4	0.20	0.072	0.04	-1.325	1.755625	0.075216	-0.003216	1.03416E-05
5	0.50	0.129	0.25	-1.025	1.050625	0.134431	-0.005431	2.94968E-05
6	0.50	0.132	0.25	-1.025	1.050625	0.134431	-0.002431	5.91025E-06
7	1.00	0.230	1.00	-0.525	0.275625	0.233123	-0.003123	9.75438E-06
8	1.00	0.239	1.00	-0.525	0.275625	0.233123	0.005877	3.45368E-05
9	1.50	0.333	2.25	-0.025	0.000625	0.331815	0.001185	1.40351E-06
10	1.50	0.326	2.25	-0.025	0.000625	0.331815	-0.005815	3.38177E-05
11	2.00	0.433	4.00	0.475	0.225625	0.430507	0.002493	6.21305E-06
12	2.00	0.437	4.00	0.475	0.225625	0.430507	0.006493	4.21539E-05
13	3.00	0.632	9.00	1.475	2.175625	0.627892	0.004108	1.6879E-05
14	3.00	0.632	9.00	1.475	2.175625	0.627892	0.004108	1.6879E-05
15	4.00	0.810	16.00	2.475	6.125625	0.825276	-0.015276	0.00023335
16	4.00	0.832	16.00	2.475	6.125625	0.825276	0.006724	4.52149E-05
Suma	24.40	5.388	65.08		27.870			5.1031 X10 ⁻⁴
Promedio	1.525	0.337						

Estadístico	Valor del estadístico	Estadístico	Valor del estadístico
Coefficiente de correlación	0.9997	Límite de detección	0.0539
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9995	Límite Cuantificación	0.0961
Pendiente (b)	0.1974		
Ordenada en el origen (a)	0.03569	Concentración mínima detectable[Fe]	0.0920 ppm
Desviación estándar en la pendiente (Sb)	0.001144	Concentración mínima cuantificable[Fe]	0.306 ppm
Desviación estándar en el origen(Sa)	0.00231		
Límite de confianza para la pendiente t(16-2)Sb 95%	0.0025		
Límite de confianza para la ordenada t(16-2)Sb 95%	0.00494		
Valor de t de student para 14 grados de libertad t(16-2)Sb 95%	2.140		

Anexo N° 31

Hoja de cálculo elaborada con los estadísticos asociados en la regresión de la mejor curva de calibrado del gráfico 5.6.1

<i>Estándares</i>	<i>Fe (mg/L)</i>	<i>Absorbancia</i>	$(xi)^2$	$(xi-\bar{x})$	$(xi-\bar{x})^2$	\hat{y}	$yi - \hat{y}$	$(yi - \hat{y})^2$
1	0.00	0.021	0.00	-1.525	2.325625	0.019950	0.001050	1.1025E-06
2	0.00	0.018	0.00	-1.525	2.325625	0.019950	-0.001950	3.8025E-06
3	0.20	0.054	0.04	-1.325	1.755625	0.055760	-0.001760	3.0969E-06
4	0.20	0.060	0.04	-1.325	1.755625	0.055760	0.004240	1.79793E-05
5	0.50	0.118	0.25	-1.025	1.050625	0.109475	0.008525	7.26842E-05
6	0.50	0.118	0.25	-1.025	1.050625	0.109475	0.008525	7.26842E-05
7	1.00	0.212	1.00	-0.525	0.275625	0.198999	0.013001	0.000169026
8	1.00	0.216	1.00	-0.525	0.275625	0.198999	0.017001	0.000289034
9	1.50	0.306	2.25	-0.025	0.000625	0.288524	0.017477	0.000305428
10	1.50	0.291	2.25	-0.025	0.000625	0.288524	0.002476	6.13305E-06
11	2.00	0.374	4.00	0.475	0.225625	0.378048	-0.004048	1.63863E-05
12	2.00	0.352	4.00	0.475	0.225625	0.378048	-0.026048	0.000678498
13	3.00	0.489	9.00	1.475	2.175625	0.557097	-0.068097	0.004637201
14	3.00	0.480	9.00	1.475	2.175625	0.557097	-0.077097	0.005943947
15	4.00	0.793	16.00	2.475	6.125625	0.736146	0.056854	0.003232377
16	4.00	0.786	16.00	2.475	6.125625	0.736146	0.049854	0.002485421
Suma	24.40	4.688	65.08		27.870			1.79348×10^{-2}
Promedio	1.525	0.293						

Estadístico	Valor del estadístico	Estadístico	Valor del estadístico
Coeficiente de correlación	0.9901	Limite detección	0.1273
Coeficiente de determinación (r^2)	0.9803	Limite Cuantificación	0.3771
Pendiente (b)	0.179049		
Ordenada en el origen (a)	0.019950	Concentración mínima detectable[Fe]	0.599ppm
Desviación estándar en la pendiente (Sb)	0.00678	Concentración mínima cuantificable[Fe]	1.094 ppm
Desviación estándar en el origen(Sa)	0.0137		
Límite de confianza para la pendiente t(16-2)Sb 95%	0.0145		
Límite de confianza para la ordenada t(16-2)Sb 95%	0.0293		
Valor de t de student para 14 grados de libertad t(16-2)Sb 95%	2.140		

Anexo N° 32

Hoja de cálculo elaborada con los estadísticos asociados en la regresión de la mejor curva de calibrado del gráfico 5.8.1

<i>Estándares</i>	<i>Fe (mg/L)</i>	<i>Absorbancia</i>	$(xi)^2$	$(xi-\bar{x})$	$(xi-\bar{x})^2$	\hat{y}	$yi - \hat{y}$	$(yi - \hat{y})^2$
1	0.00	0.017	0.00	-1.525	2.325625	0.013104	0.003896	1.51765E-05
2	0.00	0.014	0.00	-1.525	2.325625	0.013104	0.000896	8.02278E-07
3	0.20	0.054	0.04	-1.325	1.755625	0.051689	0.002311	5.34118E-06
4	0.20	0.052	0.04	-1.325	1.755625	0.051689	0.000311	9.67832E-08
5	0.50	0.114	0.25	-1.025	1.050625	0.109566	0.004434	1.96621E-05
6	0.50	0.112	0.25	-1.025	1.050625	0.109566	0.002434	5.92533E-06
7	1.00	0.176	1.00	-0.525	0.275625	0.206027	-0.030027	0.000901639
8	1.00	0.209	1.00	-0.525	0.275625	0.206027	0.002973	8.83695E-06
9	1.50	0.299	2.25	-0.025	0.000625	0.302489	-0.003489	1.21717E-05
10	1.50	0.313	2.25	-0.025	0.000625	0.302489	0.010511	0.000110485
11	2.00	0.403	4.00	0.475	0.225625	0.398950	0.004050	1.64001E-05
12	2.00	0.400	4.00	0.475	0.225625	0.398950	0.001050	1.10187E-06
13	3.00	0.588	9.00	1.475	2.175625	0.591873	-0.003873	1.50025E-05
14	3.00	0.596	9.00	1.475	2.175625	0.591873	0.004127	1.70297E-05
15	4.00	0.784	16.00	2.475	6.125625	0.784796	-0.000796	6.34094E-07
16	4.00	0.786	16.00	2.475	6.125625	0.784796	0.001204	1.44889E-06
suma	24.40	4.917	65.08		27.870			1.13175E-03
Promedio	1.525	0.307						

Estadístico	Valor del estadístico	Estadístico	Valor del estadístico
Coefficiente de correlación	0.999	Limite detección	0.0401
Coefficiente de determinación (r^2)	0.998	Limite Cuantificación	0.103
Pendiente (b)	0.19292		
Ordenada en el origen (a)	0.01310	Concentración mínima detectable[Fe]	0.140 ppm
Desviación estándar en la pendiente (Sb)	0.00170	Concentración mínima cuantificable[Fe]	0.466 ppm
Desviación estándar en el origen(Sa)	0.00343		
Límite de confianza para la pendiente t(16-2)Sb 95%	0.00364		
Límite de confianza para la ordenada t(16-2)Sb 95%	0.00735		
Valor de t de student para 14 grados de libertad t(16-2)Sb 95%	2.140		

Anexo N° 33

Cálculo manual con los estadísticos asociados en la regresión de la mejor curva de calibrado en cada uno de los tres gráficos 5.4.1, 5.6.1 y 5.8.1.

Primer Curva de calibrado para la cuantificación del primer lote de espinaca (30 muestras).

1- Calculo del Errores en las mediciones

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{5.1031 \times 10^{-4}}{14}}$$

$$S_{y/x} = 0.00604$$

2-Desviacion estándar en la pendiente

$$S_b = \frac{\frac{S_y}{x}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$S_b = \frac{0.00604}{\sqrt{27.870}}$$

$$S_b = 0.01144$$

Para n-2, 14 grados de libertad y nivel de confianza al 95 % es de 2.14, valor tomado de la tabla de t-Student Anexo N° 29 (pág.42)

Los límite de confianza al 95 % para para la pendiente b son

$$b = 0.19738 \pm (2.14 * 0.00114)$$

$$b = 0.19738 \pm 0.0025$$

3-Desviacion estándar en el origen

$$Sa = Sy/x \sqrt{\frac{\sum xi^2}{n \sum (xi - \bar{x})^2}}$$

$$Sa = 0.00604 \sqrt{\frac{65.08}{(16) (27.870)}}$$

$$Sa = (0.0064)(0.382028)$$

$$Sa = 0.00231$$

Los límites de confianza al 95% para intercepto a son

$$a = 0.0357389 \pm (2.14 * 0.00231)$$

$$a = 0.0357389 \pm 0.00494$$

4-Desviación estándar de las muestras *Basella alba* para el primer lote de Espinaca (30 muestras).

$$Sx_0 = \frac{Sy/x}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (Xi - \bar{X})^2}}$$

$$Sx_0 = \frac{0.00604}{0.19738} \sqrt{1 + \frac{1}{16} + \frac{(0.225 - 0.336)^2}{0.19738^2 (27.870)}}$$

$$Sx_0 = (0.030601)(1.0362659)$$

$$Sx_0 = 0.03171$$

Los límites de confianza al 95% para la [Fe] 3.18 mg/ 100 g y 16-2 grados de libertad es de t= 2.14

$$\pm IC Sx_0 = 2.14 * 0.03171$$

$$\pm IC Sx_0 = 0.0679 \cong 0.07$$

$$3.18 \pm 0.07 \frac{mg}{100g} \text{ de hojas de espinaca}$$

Segunda curva de calibrado para la cuantificación del segundo lote de espinaca (12 muestras).

1- Calculo del Errores en las mediciones

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{1.79348 \times 10^{-2}}{14}}$$

$$S_{y/x} = 0.035791$$

2-Desviacion estándar en la pendiente

$$S_b = \frac{\frac{S_y}{x}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$S_b = \frac{0.035791}{\sqrt{27.870}}$$

$$S_b = 0.00678$$

El valor de t de student para n-2, 14 grados de libertad y nivel de confianza al 95 % es de 2.14

Los límites de confianza al 95 % para la pendiente b son

$$b = 0.179049 \pm (2.14 * 0.00678)$$

$$b = 0.179049 \pm 0.0145$$

3-Desviación estándar en el origen

$$Sa = Sy/x \sqrt{\frac{\sum xi^2}{n \sum (xi - \bar{x})^2}}$$

$$Sa = 0.035791 \sqrt{\frac{65.08}{(16) (27.870)}}$$

$$Sa = (0.035791)(0.382028)$$

$$Sa = 0.0137$$

Los límites de confianza al 95% para intercepto a son

$$a = 0.019950 \pm (2.14 * 0.0137)$$

$$a = 0.019950 \pm 0.0293$$

4-Desviación estándar de las muestras *Basella alba* para el segundo Lote de Espinaca (12 muestras).

$$Sx_0 = \frac{Sy/x}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (Xi - \bar{X})^2}}$$

$$Sx_0 = \frac{0.035791}{0.179049} \sqrt{1 + \frac{1}{16} + \frac{(0.126 - 0.293)^2}{0.179049^2 (27.870)}}$$

$$Sx_0 = (0.199895)(1.0458079)$$

$$Sx_0 = 0.20905$$

Los límites de confianza al 95% para la [Fe] 1.97 mg/ 100 g y 16-2 grados de libertad es de t= 2.14

$$\pm IC Sx_0 = 2.14 * 0.20905$$

$$\pm IC Sx_0 = 0.447$$

$$1.97 \pm 0.44 \frac{mg}{100g} \text{ de hojas de espinaca}$$

Tercer curva de calibración para la cuantificación del tercer lote de espinaca (16 muestras).

1- Cálculo del Errores en las mediciones

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{1.13175 \times 10^{-3}}{14}}$$

$$S_{y/x} = 0.00899$$

2-Desviación estándar en la pendiente

$$S_b = \frac{\frac{S_y}{x}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

$$S_b = \frac{0.00899}{\sqrt{27.870}}$$

$$S_b = 0.00170$$

El valor de t de student para n-2, 14 grados de libertad y nivel de confianza al 95 % es de 2.14

Los límites de confianza al 95 % para la pendiente b son

$$b = 0.192923 \pm (2.14 * 0.00170)$$

$$b = 0.192923 \pm 0.00364$$

3-Desviación estándar en el origen

$$Sa = Sy/x \sqrt{\frac{\sum xi^2}{n \sum (xi - \bar{x})^2}}$$

$$Sa = 0.00899 \sqrt{\frac{65.08}{(16) (27.870)}}$$

$$Sa = (0.00899)(0.382028)$$

$$Sa = 0.00343$$

Los límites de confianza al 95% para intercepto a son

$$a = 0.013104 \pm (2.14 * 0.00343)$$

$$a = 0.013104 \pm 0.00735$$

4-Desviación estándar de la muestra *Basella alba* para el tercer lote de espinaca (16 muestras).

$$Sx_0 = \frac{Sy/x}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (Xi - \bar{X})^2}}$$

$$Sx_0 = \frac{0.00899}{0.192923} \sqrt{1 + \frac{1}{16} + \frac{(0.182 - 0.307)^2}{0.192923^2 (27.870)}}$$

$$Sx_0 = (0.0465989)(1.03805738)$$

$$Sx_0 = 0.0480$$

Los límites de confianza al 95% para la [Fe] 2.92 mg/ 100 g y 16-2 grados de libertad es de t= 2.14

$$\pm IC Sx_0 = 2.14 * 0.0480$$

$$\pm IC Sx_0 = 0.1035 \cong 0.10$$

$$2.92 \pm 0.10 \frac{mg}{100g} \text{ de hojas de espinaca}$$

Glosario

A: Absorbancia.

AACC: Asociación de Químicos del Cereal

Ac: Absorbancias corregidas.

AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales

BC: Blanco de análisis (masa vacía de la cápsula, promedio de tres pesadas).

% CT_{bh}: Porcentaje de cenizas totales en base húmeda.

f:Factor de dilución

[Fe]_d (mg/L): Concentración de hierro diluida de la solución ácida digerida de las cenizas de las hojas.

[Fe]_m : Concentración de hierro final de la muestra expresada como masa/masa.

FNM: Formulario Nacional de Medicamentos.

Fotónico: Es la ciencia de la luz; tecnología de la generación, control y detección de las ondas de luz y los fotones que son partículas de luz.

% H: Porcentaje de humedad.

H_p: Humedad promedio de los blancos de análisis

in situ: En el lugar o en el sitio.

LAFQA: Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos

M (g):Masa adecuada de las hojas de espinaca para el análisis (15.00 mg)

M₀: Masa del crisol vacío (promedio de tres pesadas).

M₁: Masa fresca (muestra control y muestra de análisis).

M₂: Masa de la cápsula con el residuo seco – masa vacía de la cápsula

MTC: Muestra control.

MCTR₍₂₎: Muestra Catarina.

m_f: Masa fresca de espinaca.

m_{fc}: Masa fresca de espinaca corregida.

m_{fcb} : Masa fresca de espinaca corregida bruta.

MTSJ: Muestra San Juan de Oriente.

NNDSR: Base de Datos Nacional de Nutrientes para Referencias Estándares

P_o : Poder radiante de la fuente

P_r : Poder radiante transmitido por la muestra.

% R_s: Porcentaje de residuo seco.

T: Transmitancia

TCA-INCAP: Tabla de Composición de Alimentos-Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá

USDA: Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América

UV: Ultra violeta –visible

V (mL): Volumen final de la solución ácida digerida 50 ml.